



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département: Biologie Appliquée



MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Ecophysiologie animale

Thème:

***Hépatotoxicité d'un pesticide
néonicotinoïde chez les rats Wistar***

Présenté par:

M^{elle}. Boukhalfa Abir

M^{elle}. Harsa Yasmine

Devant le jury:

Mr. Menaceur Fouad	Pr.	U.L.T. Tébessa	Président
Mr. ROUABHI Rachid	Pr.	U.L.T. Tébessa	Rapporteur
Mr. Goudjil Taher	M.C.B	U.L.T. Tébessa	Examineur

Date de Soutenance: 09/06/2022

Note: / 20. Mention :

ملخص

النيونيكوتينويد هي فئة من المبيدات الحشرية ، تستخدم بشكل أساسي في الزراعة، والتي تتميز منها مادة إيميداكلوبريد الكيميائية، الأكثر استخدامًا في العالم ويمكن أن يكون له أيضًا آثار ضارة في أعضاء الجسم المختلفة مثل الكبد. شرعنا في التطبيق التجريبي على فئران من نوع ويستار نموذج الحيوان التجريبي لمدة 40 يوما.

الهدف من هذا العمل هو تسليط الضوء على الآثار السامة لجرعتين من إيميداكلوبريد (5 & 50) ملغم / كغم / يوم) على خلايا الكبد. استهدفت تجاربنا عدة مجالات أساسية للتجربة، بدءًا من عمل الإنزيمات الخلوية وموت الخلايا. تم إجراء دراستنا من خلال تجربة على فئران سلالة ويستار. وهي مقسمة إلى ثلاثة مجالات رئيسية ، دراسات معايير الإجهاد التأكسدي (MDA, GSH, GPX, GST) ، المعايير البيوكيميائية (TGO, TGP) والتمثيل الغذائي (بروتينات. سكريات. دهون) ، تظهر نتائجنا أن إيميداكلوبريد يسبب تأثيرات ضارة على الكائن الحي مما يؤدي إلى زيادة نشاط معايير الأكسدة البيولوجية ونقص الإنزيمات المضادة للأكسدة في عصار خلايا الكبد مقارنة بالشاهد. وأن شدة السمية تزداد مع زيادة الجرعة ، وهذا ما بينته النتائج المتباينة بين الجرعتين 5 و 50 مجم / كجم / يوم. كل هذه المعايير هي مؤشرات محتملة للسمية الكبدية .

الكلمات المفتاحية: إيميداكلوبريد ، الإجهاد التأكسدي ، مضادات الأكسدة، مبيدات حشرية.

Abstract

Neonicotinoids correspond to a class of insecticides, they are mainly used in agriculture, from which the chemical substance Imidacloprid is distinguished, Is the most used in the world and that it can also have harmful effects in the various organs of the body such as the liver.

The objective of this work is to highlight the toxic effects of two doses of Imidacloprid (5 & 50 mg/kg/day) .For 40 days and we proceeded to the experimental application on rats of the type “Westar” as an experimental animal model.

Our experiments have targeted several basic areas of experimentation, starting with the work of enzymes cells and cell death. Our study is divided into three major areas of study, studies of oxidative stress parameters (MDA, GSH, GPX, GST), parameter biochemical (ALAT, ASAT) and metabolic (Lipids, Proteins, Carbohydrates), our results show that Imidacloprid causes harmful effects on the organism resulting in an increase in the activity of biological indicators of oxidation and a decrease in antioxidant enzymes in the cell juices of the liver compared to controls. And that the intensity of toxicity increases with increasing dose, and this is what the results showed between the two doses 5 and 50 mg/kg/day.

All of these parameters are signs of a possible hepatotoxicity.

Keywords: Imidacloprid, Oxidative Stress, Antioxidants, Pesticides.

Résumé

Les Néonicotinoïdes correspondent à une classe d'insecticides, on les utilise surtout dans l'agriculture dont les quelle on distingue la substance chimique l'Imidaclopride, est la plus utilisé dans le monde et qu'elle peut possède également des effets néfastes dans les différents organes de l'organisme comme le foie.

L'objectif de ce travail est de mettre en lumière les effets toxiques de deux doses d'Imidaclopride (5 & 50 mg/kg/jour) sur les cellules hépatique, Pendant 40 jours nous avons procédé à l'application expérimentale sur des rats du type « *Wistar* » comme modèle animal d'expérimentation.

Nos expériences ont ciblé plusieurs domaines d'expérimentation de base, à commencer par le travail des enzymes cellulaires et la mort cellulaire. Notre étude est réalisée par une expérimentation est divisée en trois importants axes d'études, étude des paramètres de stress oxydatif (MDA, GSH, GPX, GST), paramètres biochimiques (TGO, TGP), et métaboliques (Lipides, Protéines, Glucides), Nos résultats montrent que l'imidaclopride provoque des effets nocifs sur l'organisme se traduit par une augmentation de l'activité des indicateurs biologiques d'oxydation et une diminution des enzymes antioxydants dans les sucs cellulaires du foie par rapport aux témoins. Et que l'intensité de toxicité augmente avec l'augmentation de la dose, et c'est ce que les résultats ont montré entre les deux doses 5 et 50 mg/kg/jour.

L'ensemble de ces paramètres sont des signes d'une éventuelle hépatotoxicité.

Mots-clés : Imidaclopride, Stress Oxydant, Antioxydants, Pesticides.



Remerciements

C'est avec un énorme plaisir que nous réservons ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail. Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant pour nous avoir aidé à réaliser ce modeste travail.

*Nos vifs remerciements à notre encadreur **Pr. Rouabhi Rachid** pour son encadrement, sa disponibilité, ses conseils et ses orientations enrichissantes de ce travail.*

*Un grand merci pour aux notre belle, gentille et respectueuse Co-encadreur **Sarra Zouaoui**, qui est un modèle d'excellence et qui a un très grand mérite accès à Ce que nous sommes aujourd'hui.*

*Nous remercions aussi notre examinatrice **Dr. Goudjil Tahar** et notre présidente **Pr. Menaceur Fouad** d'avoir accepté de juger le contenu du présent mémoire.*

Et à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

DÉDICACE

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes deux précieuses perles du monde mes chers parents qui m'avez dirigé et suivi pendent toute mes années d'étude et surtout ma chère mère pour leurs sacrifices de tous les instants, sa patience sans limite et l'éducation qu'elle ma donnée, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'amour et l'attachement que j'ai pour elle, je lui dis merci mille fois.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à:

- Mes quatre chers frères, qui n'ont jamais cessé de m'encourager et de me soutenir.
- Ma chère tante **Boukhalfa Radhia** qui a toujours accepté mes choix et de m'avoir soutenue à tout moment. Elle m'a donné envie de travailler, d'être fière de moi, et toujours indépendante. Je n'aurais rien accompli de tel sans sa présence et son soutien. Je l'aime très fort.
- Mes chères tantes, **Mebarka** et **Nadia** Qui m'a encouragé toute la durée de la période d'études.
- Mon cher oncle **Boulanoir** qui m'a soutenu et que j'ai lui considéré comme un symbole d'espoir et du patience.
- Mes chers grands-pères La miséricorde de Dieu sur eux, Ce qui aurait été mieux s'ils étaient avec moi.
- **Radja Otmani** qui a fait tant d'efforts pour m'aider Malgré les conditions de travail.

Je laisse le meilleur pour la fin et Je conclus mon dédicace à :

- **Madam Warda Otmani** qui a été toujours cru en mon succès et mes capacités, que je lui considère comme ma deuxième mère, car elle a été une source de soutien pour moi depuis mon enfance.

& enfin, A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

ABIR

DÉDICACE

A ma *belle-mère*,

A son amour incomparable A sa présence indispensable

Ma plus grande supportrice, son réconfort et ses prières.

A mes chères sœurs, *Roumaissa, Manal, Salama*, qui sont au conseil d'administration et à tout le soutien moral qui peut être présent et qui sont toujours à mes côtés pour m'encourager et me soutenir.

A toute ma famille et mes amis et en particulier *Boukhalfa Abir*, qui m'a accompagné tout au long de mon parcours universitaire.

Tout particulièrement *Pr. ROUABHI Rachid* Pour l'orientation, La confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon port.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements a. ma belle Co-encadreur *ZOUAOUI Sarra* pour sa disponibilité permanente et ses conseils dans notre travail.

Merci pour ta disponibilité, ta gentillesse, ton humour et ton soutien.

A ma chère grand-mère, que Dieu ait pitié de toi, tu resteras dans ma mémoire et dans mon cœur, repose en paix, que Dieu t'accueille dans son paradis.

A ma tante *Latifah* et une photo, je t'aime et merci à tous ceux qui ont contribué à mon succès de près ou de loin, sans oublier mon chat qui m'accompagne dans la nuit dû à mon succès.

Yasmine

Liste Des Figures

Figure 01 : Vue supérieur d'un foie de rat	3
Figure 02 : Rat <i>Wistar</i>	6
Figure 03 : Mode d'exposition aux pesticides	17
Figure 04 : Impact des pesticides sur l'écosystème	18
Figure 05 : La structure chimique de l'imidaclopride.....	20
Figure 06 : Rat male <i>Rattus Rattus</i> de la race <i>Wistar</i>	24
Figure 07 : Conditions d'élevage des rats <i>Rattus Rattus</i>	24
Figure 08 : Méthode de traitement par voie orale.....	25
Figure 09 : Le sacrifice de rat.....	26
Figure 10 : Prélèvement des foies.....	26
Figure 11 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	27
Figure 12 : Méthodes d'extraction et dosage des principaux constituants biochimiques....	29
Figure 13 : Variations du taux des Glucide ($\mu\text{g/g}$) chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.....	39
Figure 14 : Variation de la teneur hépatique en lipide chez les rats témoins et traité après 40 jours de traitement.....	40
Figure 15 : Variations des taux de protéine hépatique chez les groupes témoins et traités après 40 jours de traitement.....	41
Figure 16 : Variations du taux de MDA hépatique ($\mu\text{mol/mg}$ de protéine) chez les groupes témoins et traités après 40 jours.....	42
Figure 17 : Variations du taux de GSH ($\mu\text{mol/mg}$ protéine) dans le foie chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.....	43
Figure 18 : Activité enzymatique de GST hépatique chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.....	44
Figure 19 : Activité enzymatique de GPx hépatique ($\mu\text{mol/min/mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.....	45
Figure 20 : Les effets de l'Imidaclopride (IMI) sur la concentration du taux de TGO.....	46
Figure 21 : Les effets de l'Imidaclopride (IMI) sur la concentration du taux de TGP.....	47

Liste Des Tableaux

Tableau 01: Mode d'action des herbicides, fongicides et insecticides.	15
Tableau 02 : Les propriétés physicochimiques d'imidaclopride.....	21
Tableau 03: Variations de taux des glucides hépatiques chez les différents lots expérimentaux.....	39
Tableau 04 : Variation de taux des lipides hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux.....	40
Tableau 05: Variations du taux de protéine hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux.....	41
Tableau 06 : Taux de MDA hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.....	42
Tableau 07: Variation du taux de GSH hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.....	43
Tableau 08: activité enzymatique de GST hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.....	44
Tableau 09: Variation d'activité enzymatique de GPx hépatique chez les rats dans les différents lots expérimentaux.....	45
Tableau 10: Variations de taux de TGO dans les différents lots expérimentaux.....	46
Tableau 11 : Variations du taux de TGP dans les différents lots expérimentaux.....	47

Liste des abréviations

HO	hydroxyle.
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HO₂•	Radical hydro peroxye
Hcl	Acide chlorhydrique
HOCl	Acidehypochlorique
iNOS	Inducible nitric oxide synthas
k	kelvin unité système international de temperature
K /j/mol	Kilo/joule /mole
KHz	Kilohertz
LOX	protein-lysine 6-oxidase
M	Mole
M⁻¹cm⁻¹	Mole-1 centimètre-1
Mn	Manganèse
nm	Nanomètre
NaoH	hydroxyde de sodium
NO•	Monoxyde d'azote
NP	Nanoparticules
OH	Radical hydroxyle
O₂-	L'anion superoxyde
PDGF	Platelet-derived Growth Factor
PL	phospholipides
P	risque d'erreur
ML	lobe médiane (median lobe)
LLL	lobe latéral gauche (left lateral lobe)
SRL	lobe supérieur droit (superieur right lobe)
IRL	lobe inférieur droit (inferieur right lobe)
CP	lobe précession caudat (caudat precess)
AC	lobe de spiegel antérieur (Anterieur spiegel lobe)
PC	lobe de spiegel postérieur (posterieur spiegel lobe)

LG	Lobe gauche
LD	Lobe droit
CCl4	tétrachlorure de carbone
NAC	Nouveaux animaux de compagnie
ADN	acide désoxyribonucléique
AGPI	acides gras polyinsaturés
4- HNE	4-hydroxynonanal
SH	Sulfhydrile
PFG	produits finaux de glycosylation
SOD	Superoxyde dismutases
OMS	organisation mondiale de la santé
DDT	dichlorodiphényltrichloroéthane
NACHR	récepteur nicotinique acétylcholine
CL 50	Concentration létales
T3	Thyroïde 3
T4	Thyroïde 4
ASAT	L'aspartate aminotransférase
ALAT	L'alanine aminotransférase
5. OH	5-hydroxy- imidclopride

Sommaire

ملخص

Abstract

Résumé

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Sommaire

INTRODUCTION.....01

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1 : Généralités

1. Le foie03

1.1. Définition.....03

1.2. Anatomie et physiologie du foie03

1.3. Les cellules hépatiques04

1.4. Fonction du foie04

1.4.1. Fonction sécrétoire exocrine (la bile).....04

1.4.2. Fonction antitoxique.....04

1.4.3. Fonction métabolique.....05

3 .Les rats.....05

3.1. Définition05

3.2. Classification.....05

3.3. Les rats *Wistar*.....06

3.3.1. Rôle des rats au laboratoire.....07

3.4. .L'hépatotoxicité.....	07
3.4.1. Définition.....	07
3.4.2. Les Causes.....	08
3.4.3. Les Maladies du Foie.....	08
4 .Le stress oxydatif.....	10
4.1. Définition.....	10
4.2. Mode d'action de stress oxydant.....	10
4.2.1. Définition des radicaux libres.....	10
4.2.2. Type des radicaux libres.....	11
4.2.2.1 .Les protéines.....	11
4.2.2.2. Les Lipides	11
4.2.2.3. Les acides nucléiques ADN.....	12
4.3. Système Anti-oxydant et détoxification	12
4.3.1. Les Antioxydants Enzymatiques.....	13
4.3.1.1. Catalase.....	13
4.3.1.2. Glutathion peroxydase.....	13
4.3.1.3. Glutathionne-S-transférase (GST).....	14

Chapitre 2

1. Les Pesticides	15
1.1. Définition.....	15
1.2. Classification des pesticides.....	15
1.3. Intérêt de l'utilisation.....	16
1.4. Mode d'exposition aux pesticides.....	16
1.5. Impact sur l'environnement.....	17
1.6. Effet des pesticides sur la santé.5.Impact sur l'environnement.....	18
2. Le néonicotinoïde.....	18
2.1. Définition.....	18
2.2. Les types	19
2.3. La toxicité de néonicotinoïde.....	19
2.4. La relation entre le pesticide néonicotinoïde et l'hépatotoxicité	19

3. L'imidaclopride.....	20
3.1. Définition.....	20
3.2. La composition chimique.....	20
3.3. Caractéristiques physico-chimiques.....	21
3.4. Le métabolisme.....	21
3.5. Le mode d'action.....	22
3.6. Ecotoxicologue.....	22
3.7 .La toxicité d'imidaclopride.....	22

Partie Pratique

Matériel et Méthodes

1. Matériel	24.
1.1. Matériel biologique et condition d'élevage	24
1.2. Matériel chimique	25
2. Méthode	25
2.1. Lotissement et traitement	25
2.1.1. Lotissement	25
2.1.2. Sacrifice et prélèvement d'organes	26
3. Méthodes de dosages des paramètres biochimiques	28
3.1. Paramètres métaboliques	29
3.1.1. Extraction et dosage des métabolites	30
3.1. 2. Méthodes de dosage	30
3.1.2.1. Dosage des glucides totaux	30
3.1.2.2. Dosage des lipides totaux	30
3.1.2.3. Dosage de protéines totales	30
3.2. Paramètres du stress oxydative	31
3.2.1. Biomarqueurs non enzymatiques	31
a. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)	31
b. Dosage du glutathion (GSH)	32
3.2.2. Biomarqueurs enzymatiques	33

a. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)	33
b. Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)	34
4. Dosage des transaminases	36
4.1. TGO.....	36
4.2. TGP.....	37
5. Etude statistique.....	38
6. Résultats.....	39
7. Discussion.....	48
CONCLUSION	54
Hypothèse	
Références Bibliographiques	
Annexe	

Introduction

Général

Introduction

L'agriculture est un processus par lequel les êtres humains aménagent leurs écosystèmes et contrôlent le cycle biologique d'espèces domestiquées, dans le but de produire des aliments et d'autres ressources utiles à leurs sociétés. Elle désigne l'ensemble des savoir-faire et activités ayant pour objet la culture des sols, et, plus généralement, l'ensemble des travaux sur le milieu naturel (pas seulement terrestre) permettant de cultiver et prélever des êtres vivants (végétaux, animaux, voire champignons ou microbes) utiles à l'être humain. **(Marc Dufumier, 2007)**

Actuellement l'industrie à agriculture a pris un rôle très important Dans plusieurs domaines, dont : les pesticides.

Les pesticides sont des substances chimiques utilisées dans le monde entier pour lutter Contre les parasites, qui détruisent les cultures et transmettent des maladies aux humains et aux animaux. Ils sont utilisés en agriculture pour améliorer la production alimentaire en éradiquant les insectes indésirables et en contrôlant les vecteurs de maladies **(Uzunhisarcikli & Kalender, 2011)**.

Les pesticides appartiennent à plusieurs classes chimiques. Parmi les pesticides courants, l'imidaclopride qui est un pesticide de la famille des néonicotinoïdes, insecticides les plus utilisés dans le monde, et massivement employés en agriculture depuis le début des années 1990 **(Charvet, 2004)**.

L'hépatotoxicité est le pouvoir qu'a une substance (comme les médicaments) de provoquer des dommages au foie. La toxicité du foie se manifeste sous forme d'inflammation ou encore de nécrose (mort des cellules du foie), dans les cas plus sévères. La stéatose hépatique survient l'or qu'il y a accumulation des acides gras dans le foie. **(Rachel Therrien, 2009)**

Les hépatocytes sont également soumis à un stress oxydant menant à la formation d'espèces réactives de l'oxygène endommageant l'ADN, les protéines et les lipides. **(Jaeschke, 2012)**

Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la des tractions par des systèmes de défenses anti-oxydantes donc c'est un déséquilibre de la balance antioxydants/prooxydant en faveur des pro-oxydants. **(Koppenol, 2001)**

Introduction

En biologie, la majorité des recherches ne concernaient que l'investigation des effets toxiques des xénobiotiques, tandis que les mécanismes et les agents de détoxification et de neutralisation n'ont pas encore pris leur valeur comme des objectifs des études expérimentales. C'est pour cela, dans ce travail, nous nous sommes intéressés comme objectifs:

- Mise en évidence d'une éventuelle toxicité de l'imidaclopride sur les paramètres biochimiques des rats de laboratoire (*Rattus rattus* de la race *Wistar*) comme modèle biologique.
- Estimation de l'activité enzymatique et non enzymatique suite à une intoxication orale par l'imidaclopride et plus spécifiquement au niveau du foie.

Dans le cadre de cette étude, nous mettrons en place un traitement de sacrifice par des essais *in vivo* chez les rats *Wistar*, après 30 jours d'adaptation et 40 jours de traitement par gavage orale.

Ce travail est divisé en deux parties essentielles. :

La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique et elle comporte deux chapitres :

- Le premier chapitre concernant des généralités.
- Le deuxième chapitre parle des pesticides et définit le néonicotinoïde utilisé.

La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale et est partagée en deux chapitres:

- Le premier chapitre résume les matériels et méthodes utilisées durant ce travail.
- Le deuxième chapitre est consacré aux résultats et discussion.

Partie I:
Synthèse bibliographique

Chapitre 1:

Généralités

1. Le Foie

1.1. Définition

Le foie est l'organe viscéral le plus volumineux du corps humain. C'est une glande abdominale unique et asymétrique appartenant au système digestif de couleur rouge brun (**Flament et al., 1982**). Le poids moyen du foie d'environ 1 500 g chez le cadavre est plus élevé chez le sujet vivant qu'il est gorgé de sang : de 2300 à 2600 g (Marc, 2012). Il est situé dans la partie supérieure droite de l'abdomen, dans la zone appelée hypochondre droit, juste sous la cage thoracique et le diaphragme (**Flament et al., 1982**).

1.2. Anatomie et physiologie du foie

Le foie se situe dans la loge sous phrénique droite de la cavité abdominale, limité par le diaphragme en haut et en dehors, le colon transverse et le méso colon transverse en bas, La région cœliaque en dedans (**Klotz et al, 2000**).

C'est un Organe très malléable, il se moule sur les parois de l'abdomen et les viscères voisins ; ces éléments sont en grande partie responsables de sa morphologie externe (**Castaing et al, 2006**).

Il est entouré partiellement de péritoine et enveloppé d'une capsule fibreuse, la capsule de Glisson, qui se creuse en sillons délimitant quatre lobes et qui s'invagine, sur sa face inférieure, pour former le hile hépatique ; c'est au niveau du hile, que pénètrent et sortent les vaisseaux sanguins et les nerfs, et que sortent les vaisseaux lymphatiques et les canaux biliaires (**Castaing et al, 2006**).

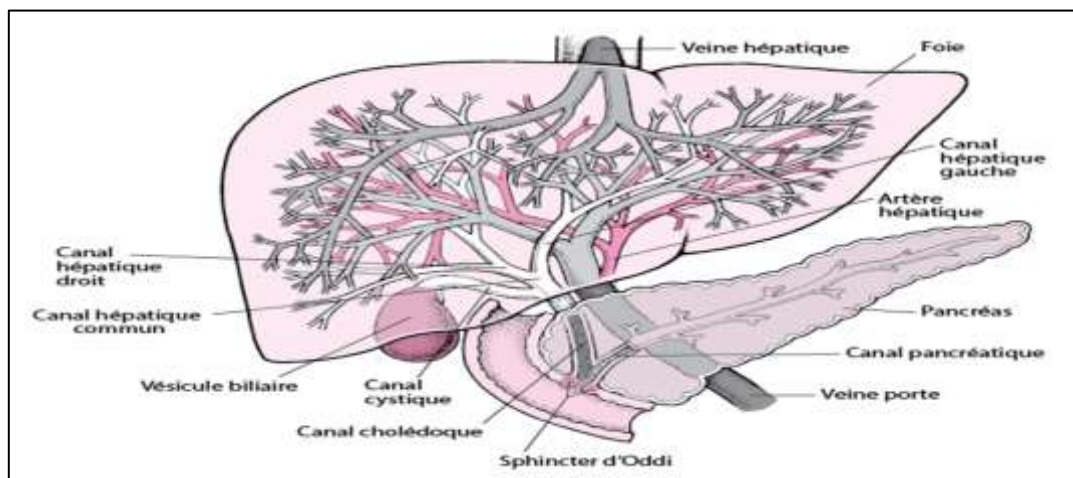


Figure 01 : La structure anatomique du foie (**Dohme Corp et al, 2021**)

Chapitre 01

Le foie est composé d'au moins six types de cellules qui sont, à côté des hépatocytes, les cellules endothéliales, épithéliales biliaires, de Kupffer, les cellules de Ito et les pit celles. Ces cellules interagissent et coopèrent à la réalisation de nombreuses fonctions métaboliques et de transport. C'est également une interaction entre les cellules de Kupffer (principalement) et les cellules de Ito qui semble être l'élément déterminant du développement des fibroses hépatiques. Enfin, dans le foie normal, des contacts spécifiques entre les hépatocytes et d'autres cellules non parenchymateuses semblent essentiels à l'expression des fonctions différenciées spécifiques. (**Castaing et al, 2006**).

1.3. Les cellules hépatiques

Elle a généralement la forme d'un polyèdre à 6 ou 8 face. Du fait de l'organisation des lames hépatiques elle présente deux face opposées bordées par un capillaire, ce sont les pôles vasculaires . Elle possède habituellement un noyau arrondi, volumineux, dont la taille peut varier d'une cellule à l'autre. Cependant, les cellules binucléées peuvent se trouver fréquemment (25% dans certaines espèces). Les mitoses sont exceptionnelles. L'enveloppe nucléaire est régulière et possède une double membrane comme les autre cellules; la chromatine est filamenteuse ou granuleuse; on rencontre près des masses de chromatine des granulations de 30 nm de diamètre environ qui semblent contenir des acides nucléiques; les nucléoles sont constituées de filaments fins et de grains denses. (**Poirier et al, 1980**).

1.4. Fonction du foie

1.4.1 Fonction sécrétoire exocrine (la bile)

- ❖ Sécrétion exocrine de la cellule hépatique, se déverse dans l'intestin après avoir été drainée par les voies biliaires intra et extra-hépatique.
- ❖ La bilirubine est conjuguée par la glycuco-tansférase; la conjugaison rend le produit soluble dans l'eau.
- ❖ Les acides biliaires sont synthétisés à partir du cholestérol.
- ❖ Une partie en est éliminée par les selles, le reste est réabsorbé par la muqueuse de l'iléon distal et revient au foie par la veine- porte; c'est la cycle entéro-hépatique (**Poirier et al, 1980**).

1.4.2. Fonction antitoxique

- ❖ Les produits non toxiques qui se dissolvent dans graisses (lipo-solubles) sont ensuite reversés dans la bile, bile qui sera amenée dans l'intestin, et éliminée dans les selles.

Chapitre 01

- ❖ Les produits qui se dissolvent dans l'eau (hydro-solubles) sont reversés dans le sang, qui les mène jusqu'aux reins : ils sont éliminés par les urines.
- ❖ Ainsi, l'ammoniaque, qui est naturellement produite par le colon (fin du tube digestif), possède une forte toxicité neurologique.
- ❖ Menée au foie par la veine porte, l'ammoniaque est transformée par les cellules du foie en urée, puis l'urée est apportée aux reins et sortie par les urines (**Daphne gnidium et al, 2018**).

1.4.3. Fonction métabolique

- ❖ Il possède grâce aux hépatocytes, un rôle dans la synthèse de l'urée, de l'albumine.
- ❖ L'intervient dans le métabolisme glucidique (stockage du glycogène, néoglucogénèse) et donc la glycémie .
- ❖ Ainsi que dans les métabolismes lipidique (β -oxydation des acides gras, synthèse de cholestérol et de phospholipides, lipogénèse) et protéique (transformation des acides aminés, formation des protéines plasmatiques sauf les immunoglobulines, catabolisme de l'ammoniaque en urée).
- ❖ Il permet le stockage en particulier des vitamines A, D et B12 mais aussi du fer du fait de la présence d'Apo ferritine dans les cellules hépatiques (**Gandillet et al, 2004**).

3. Les rats

3.1. Définition

Le rat est l'espèce la plus utilisée en nombre après la Souris. En pharmacologie et toxicologie, le rat est devenu une espèce de choix en raison des similarités métaboliques avec l'espèce humaine, sa petite taille, sa nature relativement docile, sa faible longévité (2 – 3 ans), et sa courte période de gestation. (**Descat et al, 2001**).

3.2. Classification

On distingue quatre grandes variétés de souches : les souches consanguines (in bred), les souches non consanguines (out bred), les hybrides de première génération et les souches mutantes. Il existe au total plus de 1400 souches et sous-couches répertoriées et utilisées en recherche biomédicale. (**Descat et al,2001**)

Chapitre 01

Les rats, *Rattus rattus* et *Rattus norvegicus* font partie de l'Ordre des Rongeurs. Cet Ordre regroupe plus de 1 800 espèces. Les rongeurs font partie de l'Embranchement des Vertébrés, de la Classe des Mammifères. (Tremblay et al, 2001)

Règne : Animalia **Sous-règne :** Metazoa **Embranchement :** Chordata

Sous-embranchement : Vertebrata . **Classe :** Mammalia **Sous-classe :** Theria

Infra-classe : Eutheria **Ordre :** Rodentia . **Sous-ordre :** Myomorpha

Famille : Muridae . **Sous-famille :** Murinae **Genre :** *Rattus*

Nom Binominal : *Rattus norvegicus* .

3.3. Les rats wistar

On appelle « rat de laboratoire » des souches ou lignées de rats sélectionnées et élevés et reproduits pour les besoins de l'expérimentation animale en laboratoires, ou parfois pour les leçons d'anatomie et de dissection.

Le rat étant bien plus facile à élever que les singes (plus proches génétiquement de l'homme), il est devenu l'une des espèces les plus utilisées pour l'expérimentation animale. Après la souris, c'est le rat qui est le mammifère le plus fréquemment utilisé en expérimentation animale (il compte pour à peu près 20 % du nombre total de mammifères utilisés dans la recherche). Toutes les souches de laboratoire ont été produites par sélection à partir de reproducteurs choisis par les éleveurs au sein d'élevages de Rat brun, dont les premiers exemplaires provenaient de l'espèce sauvage *Rattus norvegicus*. (George Krinke et al, 2000)



Figure 02: UN rat wistar (*Wistar rat.jpg*. Juin et al, 1992)

3.3.1. Rôle des rats au laboratoire

Son rôle de vecteur de maladies est depuis longtemps la raison des tentatives d'éradication du rat sauvage au contact de l'homme. De nombreuses méthodes sont utilisées, du piège mécanique au poison. Actuellement, les anticoagulants ont prouvé leur efficacité mais les rats semblent présenter de plus en plus de résistances ce qui amenuise l'arsenal de dératisation. Il semble donc indispensable de trouver de nouvelles molécules actives. L'étude réalisée ici vise donc à prouver l'importance zoonotique des rats en contact avec l'homme afin de démontrer la nécessité de trouver de nouveaux moyens de lutte contre les rats porteurs de zoonoses. Nous présenterons donc, dans une première partie l'espèce concernée ainsi que les zoonoses qu'elle est susceptible de porter, en insistant particulièrement sur les zoonoses recherchées. Dans une deuxième partie, nous présenterons, l'étude réalisée ainsi que les résultats sérologiques obtenus, et enfin une synthèse sera présentée (**Harkness et al, 1994**).

3.4. L'hépatotoxicité

3.4.1. Définition

Le foie est un organe important car il permet à notre organisme d'éliminer les substances nuisibles aux quelles nous sommes quotidiennement exposés (**Larrey et al, 2006**).

L'hépatotoxicité : est définie comme le pouvoir qu'a une substance (comme les médicaments) de provoquer des dommages au foie. La toxicité au foie se manifeste sous forme d'inflammation (on parlera d'hépatite) ou encore de nécrose (mort des cellules du foie), dans les cas plus sévères.

La stéatose hépatique survient lorsqu'il y a accumulation de gras dans le foie. Le foie est un organe important car il permet à notre organisme d'éliminer les substances nuisibles auxquelles nous sommes quotidiennement exposés. (**Rachel Therrien et al, 2009**).

3.4.2. Les Causes

- Des dommages au foie peuvent être occasionnés par plusieurs médicaments y compris les médicaments pour traiter le VIH.
- Presque tous les antirétroviraux ont été associés à des effets sur le foie mais plus particulièrement la névirapine (Viramune), la stavudine (ZeritMC), la didanosine (VidexMC) et la zidovudine (Retrovir®, Combivir®).
- Il y a plusieurs autres causes possibles de toxicité hépatique, par exemple la consommation d'alcool, l'usage de drogues (tels que la cocaïne et l'ecstasy). (**Rachel Therrien et al, 2009**).

3.4.3. Les Maladies Du Foie

❖ Le Cancer

Le cancer du foie est le cinquième cancer le plus fréquent et la troisième cause de décès par cancer dans le monde. Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est la plus fréquente des tumeurs malignes primitives du foie était le principal type parmi les tumeurs hépatiques diagnostiquées en Europe pour la période 1998-2002 (**Ribes et al, 2008**). Généralement, le CHC se développe sur fond de maladie du foie ou inflammation et cirrhose dans la majorité des cas. Tous les facteurs de risque de cirrhose du foie jouent un rôle dans la carcinogénèse hépatocellulaire.

❖ La Stéatose

La stéatose hépatique c'est un excès de graisse au niveau des cellules du parenchyme hépatique (les hépatocytes), à savoir plus de 5 % du poids du foie ou plus de 5% des hépatocytes chargés de gouttelettes lipidiques à l'histologie (**Lanthier et al, 2018**).

❖ L'Hépatite

L'hépatite est un processus inflammatoire du foie, qui peut être aiguë ou chronique. La guérison est spontanée dans la plupart des cas d'hépatites virales aiguës, mais dans certains cas elles peuvent progresser vers une hépatite chronique (**Koff et al, 1998**). Les causes fréquentes d'hépatites sont les virus de

l'hépatite, A ce jour, 5 virus provoquant une infection ciblée et une inflammation du foie ont été identifiés. Ces virus, désignés par les lettres A, B, C, D, et E (**Abro et al, 2009**).

❖ La Fibrose

La fibrose hépatique est la réponse de cicatrisation tissulaire à diverses agressions chroniques du foie qu'elles soient d'origine virale, parasitaire .Elle peut évoluer vers une cirrhose et, si elle n'est pas évitée, elle peut entraîner un cancer du foie et une insuffisance hépatique. La fibrogène hépatique est une conséquence physiopathologique des lésions hépatiques chroniques caractérisées par une accumulation excessive de protéines de la matrice extracellulaire (**Dhar et al, 2020**).

❖ La Cirrhose

La cirrhose du foie est une maladie chronique irréversible, elle est la conséquence des maladies du foie causées par le virus de l'hépatite, l' alcool, les troubles métaboliques, le cholestase, les troubles circulatoires, l'auto-immunité, les substances toxiques, les médicaments. Les cirrhoses hépatiques sont caractérisent par la présence des tissu conjonctif et la formation des nodules de régénérations après un nécrose ou inflammation. Ces problèmes entraînent une diminution de la fonction hépatique due à des troubles hépatocellulaires (**Arakawa et al, 2004**).

4 .Le stress oxydatif

4.1. Définition

Le stress oxydant est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés (Favier et al, 1997).

Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des radicaux libres entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire. Telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation

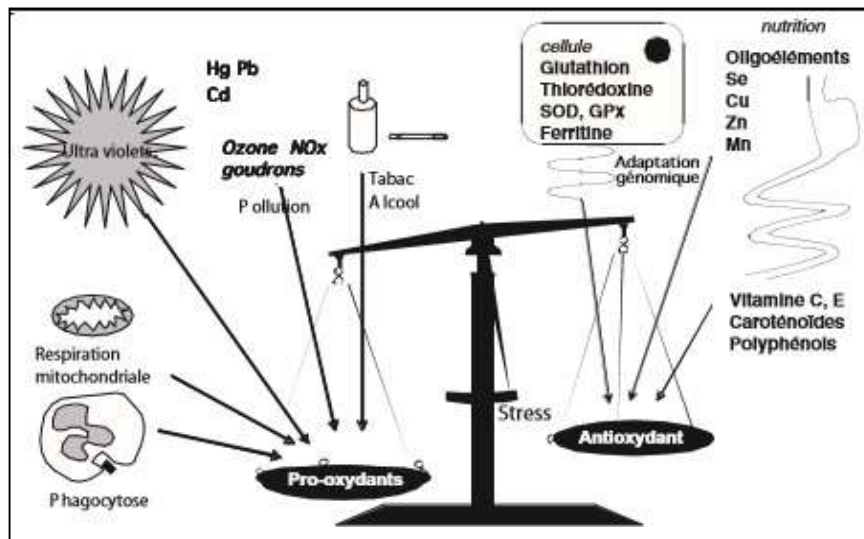


Figure 03 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier et al, 2006).

4.2. Mode D'action De Stress Oxydant

4.2.1. Définition Des Radicaux Libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui ont un ou plusieurs électrons uniques (électrons non appariés) dans leur coquille et sont capables d'existence indépendante (Halliwell et al, 1989). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ROS) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives de l'azote ERA) (Delattre et al, 2005). Les radicaux libres sont divisés en radicaux hydroxyle et en radicaux superoxyde. Les radicaux hydroxyles sont les plus puissants des ROS (espèces

réactives de l'oxygène) et ont une durée de vie extrêmement courte (moins d'une microseconde), ces radicaux diffusent très peu et réagissent presque là où ils sont générés. Comparés aux radicaux hydroxyles, les radicaux superoxydes sont peu réactifs. Ils ont une durée de vie relativement longue (environ 10 secondes) et se propagent bien au-delà de leur lieu de production (**Aminata et al, 2006**).

4.2.2. Types Des Radicaux Libres

Les espèces réactives oxygénées (ERO) incluant les radicaux libres comme le radical hydroxyl (OH.), le radical superoxyde (O₂.) et sa forme protonnée (HO₂.), le radical peroxy (ROO.) et les espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'oxygène singlet (1O₂) sont des molécules hautement réactives (**Chu et al, 2010**).

4.2.2.1 .Les Protéines

Les acides aminés ont des sensibilités différentes à l'EOA. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque de radicaux libres sur les acides aminés provoque une oxydation de certains résidus, entraînant des groupes carbonyles, des ruptures de chaînes peptidiques et des doubles ponts tyrosine intra et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (incapacité à reconnaître les récepteurs par les ligands, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées subissent peu de dégradation et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et les compartiments extracellulaires. (**Atkin et al, 2005**)

4.2.2.2. Les Lipides

Les radicaux hydroxyles sont capables d'extraire l'hydrogène du carbone situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) : c'est la première étape. Les radicaux libres lipidiques réagissent avec les molécules d'oxygène.

Des groupes peroxy (ROO•) se forment, qui sont suffisamment réactifs pour extraire H⁺ des AGPI adjacents, facilitant ainsi la réaction. Cela conduit à des changements dans la fluidité membranaire, ce qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Le peroxyde résultant sera neutralisé par la glutathion peroxydase ou continuera à être oxydé et décomposé en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) dont l'activité pro-athérosclérotique est bien connue. (**Atkin et al, 2005**)

4.2.2.3. Les Acides Nucléiques ADN

Les bases nucléiques sont susceptibles d'être directement oxydées par les ERO, conduisant à la formation de 8-oxo-guanine, à l'origine de mutations géniques (**Barouki et al, 2006**). Certains affectent les bases, d'autres induisant des cassures dans les brins (**Ré et al, 2005**). Ils conduisent à la dénaturation oxydante des acides aminés et par conséquent modifient les structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines (**Pincemail et al, 1999**). L'altération des bases nucléiques et les cassures perturbent les processus de transcription (**Deby et al, 2002**).

4.3. Système anti-oxydant et détoxification :

- **Les Antioxydants** : Substance capable, même à faible concentration, d'inhiber l'oxydation d'un substrat. (**Michel et al, 2002**)

Les systèmes de défense de l'organisme contre l'activité des **DROs** sont multiples et complexes et comprennent soit des systèmes de prévention qui empêchent la formation des **DROs** soit des systèmes de réparation ou d'élimination des cibles biologiques endommagées par les **DROs**. Les principaux mécanismes impliqués dans la prévention de l'activité des anti-oxydants sont :

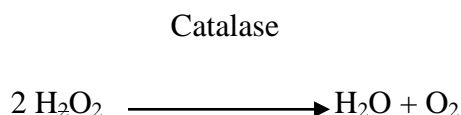
- De transformer les **DROs** en espèces moins toxiques.
- D'empêcher l'interaction entre espèces chimiques.
- De Prévenir ou réparer les lésions induites par les **DROs**

Ces systèmes peuvent être soit enzymatiques, soit moléculaires. Ils peuvent être d'origines endogènes ou exogènes et peuvent être des composés naturels ou synthétiques. Le **GSH** joue un rôle primordial dans les cellules où il participe à la synthèse des protéines et de l'ADN, au transport des acides aminés et plus généralement à la détoxification cellulaire. Enfin, le GSH permet la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau selon une réaction catalysée par la glutathion peroxydase. (**Michel et al, 2002**).

4.3.1.1. Les Antioxydants Enzymatiques

4.3.1.1. La Catalase

La catalase est une enzyme héminique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire (**Lindau et al, 1993**).



La catalase est une enzyme tétramérique, chaque sous unité comporte un groupement ferriprotophyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe³⁺ et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH par la catalase lui confère une protection contre l'attaque de l'H₂O₂ (**Delattre et al, 2005**). Présentes dans les hématies et les peroxysomes hépatiques (**Favier et al, 2003**). Il est particulièrement important dans le cas d'une teneur limitée en glutathion ou d'une activité réduite de GPX et joue un rôle important dans le développement de la tolérance au stress oxydatif dans la réponse adaptative des cellules (**Wassmann et al, 2004**).

4.3.1.2. Glutathion Peroxydase

GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (**Haleng et al, 2007**).

Il existe des GPx avec ou sans résidu sélénocystéine dans leur site actif mais les plus courantes sont celles possédant une sélénocystéine. Jusqu'à présent 5 GPx sélénocystéine ont été identifiées GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 et GPx5 (**Comhair et al, 2001**).

L'ensemble des GPx sélénocystéine catalysent la réduction des hydroperoxydes minéraux ou organique en eau et en alcool lipidique respectivement, tandis que le glutathion réduit (GSH) est transformé en glutathion oxydé (GSSG). Toutes ces enzymes contiennent dans leurs sous-unités un à quatre atomes de sélénium selon l'isoenzyme (**Delattre et al, 2005**).

Chapitre 01

Elles fonctionnent toutes selon le même mécanisme catalytique suivant :



En présence de deux molécules de glutathion sous forme réduites, la glutathion peroxydase catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau. Au fur et à mesure de sa consommation par la glutathion peroxydase, le glutathion doit être régénéré, cela est rendu possible par une glutathion réductase qui consomme une molécule de NADPH fourni par la voie des pentoses phosphates (**Jacques et al, 2004**).

4.3.1.3. Glutathionne-S-Transférase (GST)

Glutathion S-transférase est une famille de enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes catalysent la conjugaison du glutathion à des substrats électrophiles (**Pemble et al, 1994**). Ces enzymes sont impliquées dans la détoxification des d'une grande variété de composés xénobiotiques (par exemple des agents cancérigènes, des médicaments antitumoraux, les polluants environnementaux) et de composés endogène (par exemple, des peroxydes, des sous-produits de l'activité des espèces d'oxygène réactif) (**Sherratt et al, 2001**).

1. Les Pesticides

1.1. Définition

Le mot « Pesticide », terme générique dérivé des termes latins « Caedere » (tuer) et « pestis » (fléau), intégré à la langue anglaise dès les années 1940, puis à la langue française à la fin des années 1950 est utilisé aussi bien dans le langage courant que scientifique. Les pesticides ont comme caractéristique principale de lutter contre des organismes nuisibles (animaux, végétaux, champignons) mais ils peuvent aussi réguler la croissance des végétaux, avoir des propriétés défoliantes ou dessiccantes, ou encore améliorer le stockage ou le transport des produits de culture. Selon la définition de la FAO (1986) un pesticide est "une substance utilisée pour neutraliser ou détruire un ravageur, un vecteur de maladie humaine ou animale, une espèce végétale ou animale nocive ou gênante au cours de la production ou de l'entreposage de produits agricoles. (Insern et al, 2013)

1.2. Classification des pesticides

Selon l'OMS (1991) Il existe de nombreuses classifications des pesticides, en fonction de l'organisme visé, de la structure chimique du composé utilisé ou de la nature et de la gravité des risques correspondants pour la santé.

Tableau 01: Mode d'action des herbicides, fongicides et insecticides. (Insern et al, 2013)

Herbicide	
De contact	Agit sur les parties de la plante avec lesquelles il entre en contact.
Systémique	Absorbé par la plante, se déplace à l'intérieur de celle-ci.
Sélectif	Ne contrôle que certaines plantes parmi celles qui sont traitées.
Non sélectif	Contrôle toutes les plantes traitées.
Résiduaire	Se dégrade lentement et contrôle les plantes pour une longue période.
Fongicide	
Préventif	Protège la plante en empêchant que la maladie se développe.
Curatif	Réprime une maladie qui est déjà développée.
Insecticide	
De contact	Agit lorsque l'insecte entre en contact avec le produit.
D'inhalation	Agit lorsque l'insecte respire le produit.
D'ingestion	Agit lorsque l'insecte se nourrit du produit.

1.3. Intérêt de l'utilisation

- Dans l'agriculture, les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les champignons, les parasites, et les herbes estimées nuisibles à la production et à la conservation de cultures et produits agricoles ainsi que pour le traitement des locaux.
- Dans l'industrie en vue de la conservation de produits en cours de fabrication (textiles, papiers) vis-à-vis des moisissures dans les circuits de refroidissement vis-à-vis des algues et pour les désinfections des locaux.
- Dans les constructions pour protéger le bois et les matériaux

En médecine (paludisme, malaria typhus et autres épidémies) (**Nahida et al, 2012**).

1.4. Mode D'exposition Aux Pesticides

Les sources d'expositions sont multiples, puisque les pesticides sont présents dans tous les compartiments de l'environnement. L'exposition peut avoir lieu par contact direct avec la source ou par contact indirect. En effet, l'organisme humain est donc exposé via l'ingestion, l'inhalation ou l'absorption cutanéomuqueuse. Les voies prépondérantes varient selon qu'il s'agit d'exposition en milieu professionnel ou en population générale, c'est-à-dire selon deux contextes d'exposition : l'une habituellement élevée, l'autre généralement très faible mais répétée dans le temps, voire chronique.

Les enfants et les femmes enceintes, ou plus exactement leur fœtus, sont des populations particulièrement sensibles. Les enfants présentent des profils d'exposition différents de ceux des adultes. Ils sont plus exposés par voie respiratoire, mais aussi par ingestion lors du contact des mains souillées avec la bouche et lors de l'allaitement ou par voie placentaire au stade fœtal (**Géraldine Amblard et al, 2009**).

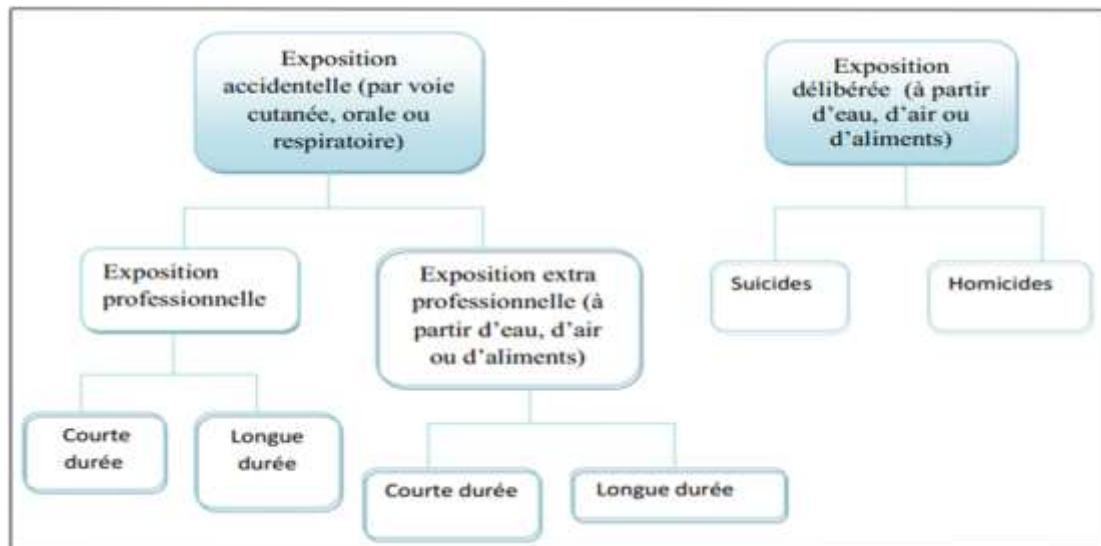


Figure 03: Mode d'exposition aux pesticides (OMS, 1991)

1.5. Impact sur l'environnement

Les pesticides peuvent être responsables de pollutions diffuses et chroniques ou aiguës et accidentelles, lors de leur fabrication, transport ou utilisation. Les risques pour l'environnement sont d'autant plus grands si ces produits toxiques sont utilisés sur des surfaces à des doses élevées, présentant ainsi un danger pour la population et les écosystèmes (Lucile Montestrucq et al, 2016).

En effet, un traitement important avec des pesticides au niveau du sol peut entraîner une baisse des populations de microorganismes bénéfiques pour le sol et contaminer même les eaux souterraines, la pollution des eaux souterraines due aux pesticides est un problème mondial. Une fois que les eaux sont polluées la contamination peut prendre plusieurs années pour se dissiper (Calvet et al, 2005).

En outre les pesticides peuvent être toxiques pour les insectes bénéfiques, les oiseaux, les mammifères, les amphibiens ou les poissons. L'empoisonnement de la faune sauvage résulte de la toxicité d'un pesticides et de ses autres propriétés, les pesticides utilisés en agriculture peuvent réduire l'abondance des mauvaises herbes et insectes qui sont une source importante de nourriture pour de nombreuses espèces animales. (Elkhansa et al, 2016)

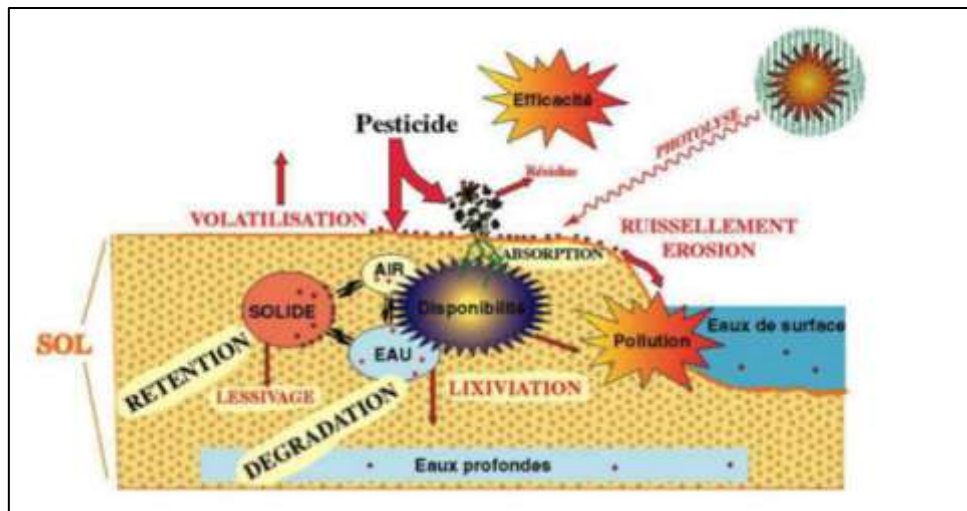


Figure 04 : Impact des pesticides sur l'écosystème (Dorothee et al, 2011)

1.6. Effet des pesticides sur la santé

La contamination de l'homme par pesticides peut se faire par différents voies, il peut absorber via les aliments et l'eau ou par contact avec la peau ou encore par inhalation, Certains produits qui présente une toxicité aigüe importants peuvent être éliminés facilement par l'organisme (Nahida, 2012).

Cependant, d'autre substance de toxicité moindre sont susceptible de s'accumuler dans l'organisme et d'induire des effets à plus long terme qui sont difficilement quantifiable. D'autre part, ces produits sont transformés à la fois en différents métabolites susceptibles d'engendrer d'autre répercussions sur l'organisme humains (J.Boland et al, 2004), en effet de nombreuses études épidémiologiques montrent que l'exposition aux pesticides augmente notablement le risque de survenue de cancers, de troubles de la reproduction et de maladies neuro-dégénératives (Jinky et al, 2010).

2. Le Néonicotinoïde

2.1. Définition

Les néonicotinoïdes correspondent à une classe d'insecticides neurotoxiques et sont très fréquemment utilisés de par le monde. Leur succès tient notamment à l'impact plus modéré de leur toxicité sur les neurones des mammifères, par rapport aux précédents insecticides utilisés, les organophosphates et les carbamates. Ils sont cependant pointés du doigt car accusés d'être à l'origine du déclin des populations d'abeilles, mais aussi de ne pas être inoffensifs pour l'Homme (Fatura et al, 2001).

2.2. Les Types

La famille des néonicotinoïdes est composée de sept molécules :

- l'imidaclopride
- le thiaméthoxame
- la clothianidine
- le dinotéfurane
- l'acétamipride
- le nitenpyrame
- le thiaclopride

Commercialisées par des géants de l'agrochimie comme Bayer ou Syngenta, elles représentent aujourd'hui environ 40 % du marché mondial des insecticides agricoles. **(Stéphane Foucart et al, 2016).**

2.3. La Toxicité de néonicotinoïde

Leur toxicité aiguë pour les mammifères est variable selon les molécules.

Chez l'insecte comme chez l'homme, les néonicotinoïdes se comportent comme des agonistes des récepteurs post-synaptiques à l'acétylcholine (**AChE**), neurotransmetteur du système nerveux central, du système nerveux parasympathique, et d'une partie du système sympathique. **(Sheets LP et al, 2010)**

2.4. La Relation entre le pesticide néonicotinoïde et l'hépatotoxicité

Les pesticides ont l'avantage de maximiser le rendement agricole et la qualité des produits, de minimiser la main-d'œuvre, de répondre aux exigences phytosanitaires et de promouvoir les ventes de produits agricoles. En plus de l'agriculture, les pesticides sont utilisés pour protéger le bois et les tissus et protéger la santé publique. Cependant, les pesticides ont des effets délétères sur les systèmes immunitaire et endocrinien et peuvent provoquer l'hépatotoxicité et les cancers. Les fœtus, les enfants, les femmes enceintes et les personnes âgées sont particulièrement vulnérables. **(Miroslav Ouzký et al, 2007).**

3. L'imidaclopride

3.1. Définition

L'imidaclopride est un insecticide systémique appartenant à une classe de produits chimiques appelés néonicotinoïdes qui agissent sur le système nerveux central des insectes. En bloquant les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine. (Gervais *et al*, 2010.).

3.2. La Composition Chimique

L'imidaclopride (1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylidèneamine), est un chloro-nicotinyle systémique insecticide sa formule développée est représentée dans la figure 03, qui agissent comme agonistes des récepteurs nicotinique post synaptiques de l'acétylcholine (nAChRs), dont le mode d'action sur le système nerveux des insectes diffère de celui des produits neurotoxiques traditionnels (Wamhoff *et al*, 1999). Il s'agit d'un insecticide utilisé dans le monde entier, qui a été commercialisé en 1991 par Bayer AG et Nihon Tokushu Noyaku Seizo KK et a été utilisé de plus en plus depuis lors. Il est Utilisé principalement pour contrôler les insectes suceurs sur les cultures comme les pucerons, les cicadelles, les thrips et termites (Tišler *et al*, 2009).

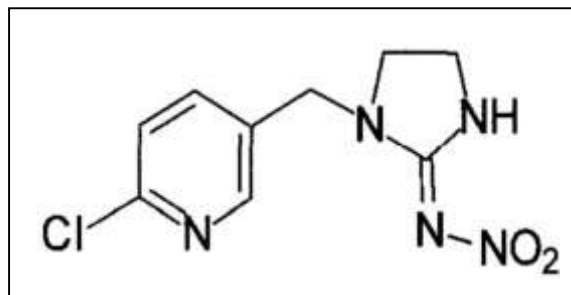


Figure 05: La Structure Chimique De L'imidaclopride (Wamhoff *et al*, 1999).

3.3. Caractéristiques Physico-Chimiques

Tableau 02 : Les propriétés physicochimiques d'imidaclopride (Al-Sayeda et al, 2007)

Paramètre	Valeur
Aspect physique	Cristaux sans couleur avec une odeur caractéristique faible
Nom Chimique	1-6-chloro-3-pyridylmethyl) Nnitroimidazolidin-2-ylidene-amine
Formule brute	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂
Poids moléculaire [g/mole]	255.7
Point de fusion	136.4 °C (forme en cristal 2) 143.8°C (forme en cristal 1)
Pression de vapeur	4. 10 ⁻¹⁰ Pa à 20 °C
Log du coefficient de partage Octanol- eau (log Kow)	0.57 à 21 °C
Constante de Henry [Pa.m ³ /mole]	2. 10 ⁻¹⁰ à 20 °C
Densité	1.54/ml à 20 °C

3.4. Le Métabolisme

Le métabolisme de l'imidaclopride est simple; il existe deux voies principales de métabolisme dans les systèmes mammifères. Le premier est le clivage oxydatif en imidazolidine, qui ne semble pas être métabolisé davantage, et l'acide nicotinique 6-Cl. Le fragment imidazolidine est excrété directement via l'urine, et le fragment nicotinique est dégradé via une conjugaison au GSH eu dérivé d'acide mercapturique et ensuite au l'acide méthylmercaptotnicotinique. La deuxième importante voie de biotransformation est l'hydroxylation de la molécule dans l'anneau imidazolidine suivi de l'élimination de l'eau sous la formation d'un métabolite insaturé (Thyssen et al, 1999).

L'imidaclopride est rapidement absorbée par le tractus intestinal et rapidement distribué dans le système mammifère, il est rapidement absorbée, métabolisé dans le foie et excrété principalement via l'urine (Vardavas et al, 2018).

3.5. Le Mode D'action

Le mode d'action des insecticides nicotinoïdes a été décrit par **Schroeder et al, 1984** comme un effet sur les synapses cholinergiques qui entraîne un blocage post synaptique conséquent dans le système nerveux du Cafard américain. Nous comprenons maintenant que l'imidaclopride au récepteurs nicotinergeriques de l'acétylcholine. Cette liaison est très spécifique, impliquant uniquement des récepteurs nicotiniques et non muscariniques, qui déclenchent une toxicité typique des réactions nicotiniques (**Thyssen et al, 1999**).

3.6 .La ToxicitéD'imidaclopride

3.6.1. Toxicité aiguë

Selon l'OMS et l'agence de protection de l'environnement des ÉtatsUnis, l'imidaclopride est classée dans la catégorie «modérément toxique» classe II ou III, et présente une toxicité aiguë par voie orale plus importante chez la souris que chez le rat : la DL50 orale est de 450 mg.kg-1 de poids corporel chez le rat et 131 mg.kg-1 chez la souris (**Ajermoun et al, 2021**).

3.6.2. Toxicité chronique

Plusieurs études illustrent la toxicité de l'IMI par ses différents mécanismes et leurs effets sur différents organes comme le cœur, les reins, le système nerveux et même la mort. Des études récentes montrent des effets de toxicité de l'IMI sur le système immunitaire, en plus des effets sur la reproduction chez les rats mâles (**Hassan et al, 2019**).

L'exposition chronique à l'imidaclopride induit une inflammation et un stress oxydatif dans le foie et les reins et même dans le système nerveux central chez le rat (**Duzguner et al, 2010; Sonphule et al, 2019**).

3.7. L'Hépatotoxicitéde l'Imidaclopride

L'hépatotoxicité est l'un des principaux effets secondaires de la toxicité de l'IMI car le foie est l'organe principal pour la détoxification et de métabolisation des pesticides (**Hassan et al, 2019**). L'exposition à long terme à l'IMI a provoqué des changements histopathologiques dans le foie, des inflammations à long terme et le stress oxydatif, ces derniers provoquent une fibrose hépatique comme un processus de récupération du la forme normal du foie (**Lohiya et al, 2017b**). Et aussi des lésions hépatiques, telles que l'hémorragie, une dégénérescence hépatocytaire, et la congestion sinusoidale et la dilatation (**Bizerra et al, 2020**).

Chapitre 02

L'imidaclopride induit le stress oxydatif chez le rat, cela provoque un déséquilibre aux niveaux des enzymes antioxydants endogènes. Cette perturbation dans le système enzymatique (antioxydant), se manifeste par la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines ce qui conduit à une lésion tissulaire hépatique (**Lohiya *et al*, 2017b**).

Partie II:
Etude expérimentale

Matériels et Méthodes

1.1. Matériel biologique et condition d'élevage

Les expérimentations ont été effectuées au niveau de laboratoire de l'université L'Arbi Tébessi de Tébessa. Nous avons utilisé **30** rats blancs mâles *Rattus rattus* de la souche *Wistar*, provenant de l'institut pasteur d'Alger (**Centre d'élevages El Kouba, Alger**). Agés de neuf semaines, d'un poids corporel vif moyen de 170 à 300 g. Après la souris d'expérimentation, le rat est le mammifère d'expérimentation de l'ordre des rongeurs le plus utilisé en recherche scientifique.



Figure 06 : Rat male *Rattus rattus* de la race *Wistar*.

Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de **30** jours, aux conditions de l'animalerie ; à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et une photopériode naturelle.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée quotidiennement.



Figure 07 : Conditions d'élevage des rats *Rattus rattu*

Matériels et Méthodes

1.2. Matériel Chimique

Dans ce travail, nous avons utilisé les Néonicotinoïdes à base l'Imidaclopride (IMI) pour le traitement des rats sous forme solution à deux doses 5 et 50 mg/kg/jour pour le traitement des rat.

- **Préparation de la solution de Néonicotinoïdes (IMI)**

La solution d'IMI a été préparée en utilisant de l'eau dés-ionisée (DI), agitée pendant 24 heures. Pour la préparation des solutions on met (0.24mg et 2.4 mg) de pesticide en poudre avec 100 ml d'eau distille dans deux flacons déférents après l'agitation des solutions avec un agitateur.

2. Méthode

2.1. Lotissement et traitement

2.1.1. Lotissement

Les rats mâles ont été répartis en 03 groupes de 10 rats chacun, il s'agit de :

Lots n°1 : contient 10 rats comme témoin ne subit aucun traitement.

Lots n° 2 : contient 10 rats traités par IMI en raison de 5 mg/Kg par voie orale

Lots n° 3 : contient 10 rats traités par IMI en raison de 50 mg/Kg par voie orale (chaque jour pendant 40 jours).



Figure 08: Méthode De Traitement Par Voie Orale.

Matériels et Méthodes

2.1.2. Sacrifice et prélèvement d'organes

Après 40 jours de traitement les rats de 3 lots ont été sacrifiés, les foies ont été rapidement prélevés après la dissection et rincés dans une solution de chlorure de sodium (Na Cl) à 0,9% puis pesées et conservées a température (-20°C), pour les dosages des différents paramètres .



Figure 09 : Le sacrifice de rat.

Les rats sacrifiés ont été pesés puis ouverts ventralement pour le prélèvement des foies (figure 10)



Figure 10 : Prélèvement des foies.

Matériels et Méthodes

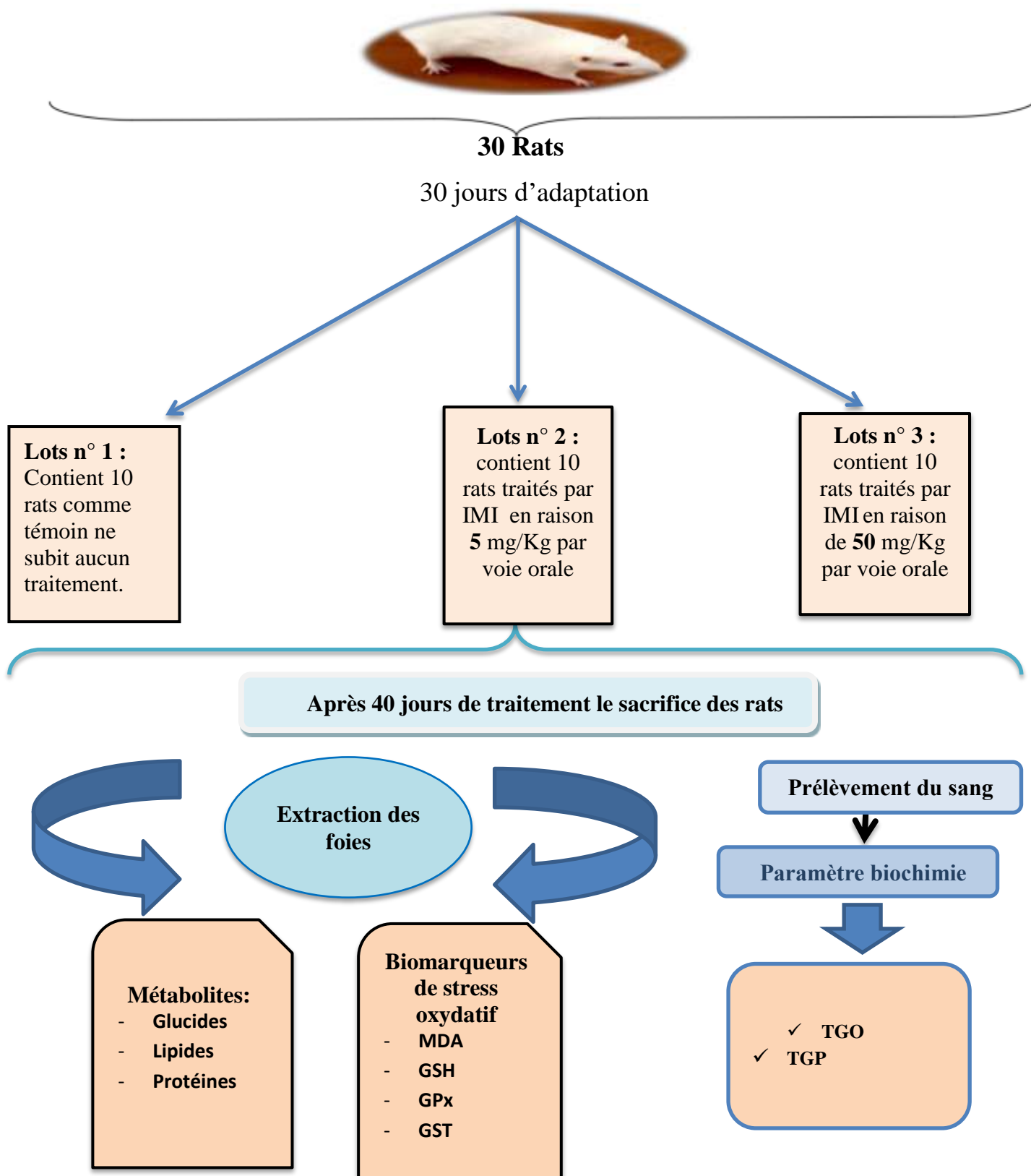


Figure 11: Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

3. Méthodes de dosages des paramètres biochimiques

3.1. Paramètres métaboliques

3.1.1. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée le procédé de **Shibko S, Koivistoinen P, Tratnyek C.A, Newhall A.R, Fridman L,1966** et les principales étapes sont résumées dans la (figure12) Les échantillons témoins et traités sont broyés à l'aide d'un broyeur magnétique dans l'acide trichloracétique (TCA) à 20% (200 mg d'organe 1ml de TCA). Après une première centrifugation (5000 tours/min, pendant 10min), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de (**Douris et al, 2009**) .Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 tours/mn, pendant 10mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnagent II sera utilisé pour le dosage des lipides, selon (**Goldsworthy et al. 1972**) et le culot II, dissout dans la NaOH (0,1 N), servira au dosage des protéines, selon **Bradford, 1976**.

Matériels et Méthodes

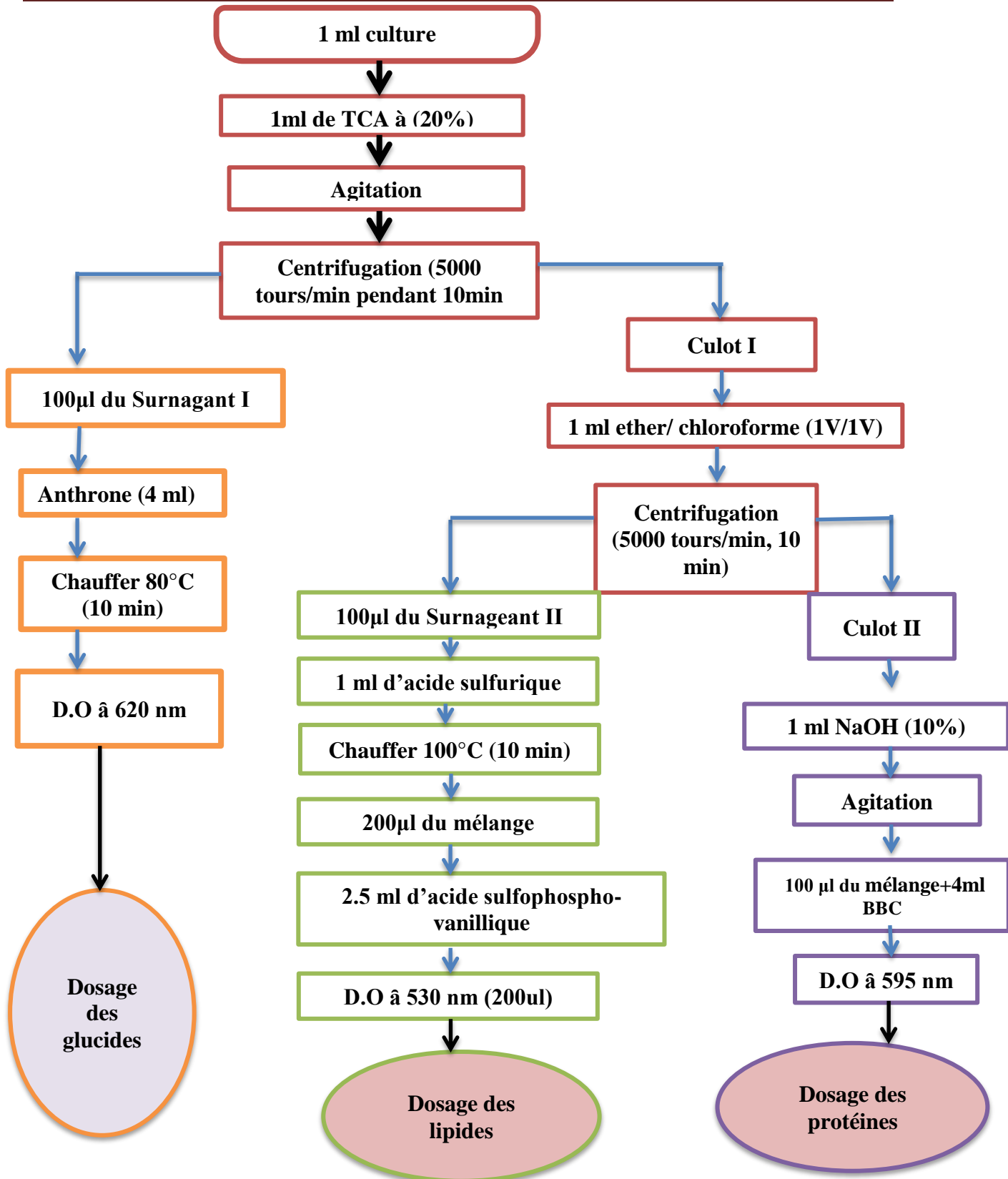


Figure 12 : Méthodes d'extraction et dosage des principaux constituants biochimiques (glucides, lipides, protéines.)

3.1. 2. Méthodes de dosage

3.1.2.1. Dosage Des Glucides Totaux

Le dosage des glucides a été réalisé selon la méthode de **Douris et al, 2009**. Cette méthode utilise l'Anthrone comme réactif (150 mg d'Anthrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose (1g/l) comme standard, La méthode consiste à :

- Additionner à une fraction aliquote de 100 µl du surnageant contenu dans un tube à essai des différents échantillons, 4 ml de réactif d'Anthrone.
- Chauffer le mélange dans un bain marie à 80 °C pendant 10 min, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon.
- La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm.

3.1.2.2. Dosage Des Lipides Totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de **Goldsworthy et al, 1972** utilisant le réactif sulfo-phospho-vanillinique (0,38g de vanilline, 195ml d'acide ortho-phosphorique à 85% et 55 ml d'eau distillée) et une solution mère de lipides (2,5mg/ml) comme standard.

- Additionné 1 ml d'acide sulfurique (98%), après agitation, les tubes sont chauffés un bain marie (100°C pendant 10 min); de chaque tube 200 µl sont ensuite prélevés et il est ajouté 2,5 ml de réactif ;
- Les absorbances ont été lues après 30 min d'obscurité à une longueur d'onde de 530 nm.

3.1.2.3. Dosage de protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu brillant de coomassie (BBC) comme réactif. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. Et (B.S.A) comme standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère d'albumine de sérum de bœuf (BSA). (1 mg/ml) et le B.B.C (conservation environ 21 jours à 4°C) qui se prépare comme suit:

- 100 mg de BBC + 50 ml d'éthanol Agitation pendant deux heures;

Matériels et Méthodes

- 100 ml d'acide ortho-phosphorique sont alors ajoutés et le tout est complété à 1000 ml avec de l'eau distillée;
- Le dosage des protéines a été effectué dans une fraction aliquote (100 ml);
- Les absorbances ont été lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm.

3.2. Paramètres Du Stress Oxydative

Qui comprend des paramètres enzymatiques et non enzymatiques.

3.2.1. Biomarqueurs Non Enzymatiques

a. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) méditées par les radicaux libres.

- Principe

Les malondialdéhydes (MDA) sont dosé selon la méthode d'**Esterbauer et al (1992)**. Cette méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et le malondialdéhyde (MDA) dans un milieu acide et chaud (100°C) en donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm.

- Protocole expérimental

- Préparer les homogénats à partir de 200mg d'organe avec tampon d'homogénéation TP (pH 7,4);
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 10 min;
- Prélever 375 µl de surnageant;
- Ajouter 150 µl de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4);
- Ajouter 375 µl de solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%);
- Agiter et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min;
- Prélever 400 µl de surnageant;
- Ajouter 80 µl d'HCl 0.6 M;
- Ajouter 320 µl de solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM);
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min;
- Lire La densité optique à $\lambda = 530$ nm.

L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés. La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert (DO = E.C.L) :

Matériels et Méthodes

$$[c] \left(\frac{\text{nmol}}{\text{mg}} \text{ de protéines} \right) \text{ —————}$$

- **C** : la concentration en nmole /mg de protéines.
- **DO** : densité optique lue à 530 nm.
- **E**: Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1,56 \cdot 10^5$ M-/cm.
- **L** : Longueur de la cuve utilisée (1cm).
- **X** : concentration de l'extrait en protéines (mg/ml)
- **F.d** : Facteur de dilution (Fd = 0.2083).

b. Dosage du glutathion (GSH)

- Principe de la méthode

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de la densité optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman ou DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique à 0,25% afin de protéger les groupements (-SH) du glutathion selon la méthode de **Weckbeker & Cory (1988)**.

- Protocole expérimental

- Préparer les homogénats à partir de 1ml de culture avec tampon phosphate EDTA (0,02M);
- Prélever 0,8ml de l'homogénat auquel y ajouter 0,2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25%;
- Agiter le mélange et laisser pendant 15 min dans un bain de glace;
- Centrifuger à la vitesse de 1000 tours/min pendant 5min;
- Prélever 0,5 de surnageant;
- Ajouter au mélange : 1ml de tampon Tris-EDTA (0,02M d'EDTA, pH 9,6), 0,025ml de DTNB et 0,5ml du surnageant.
- Laisser reposer pendant 5 minutes à température ambiante pour la stabilisation de la couleur. La réaction colorimétrique se développe instantanément;
- Mesurer les absorbances à 412 nm contre le blanc.

La concentration du glutathion est obtenue après application de la formule suivante :

Matériels et Méthodes

$$GSH \left[M \frac{GSH}{mg} \right] \frac{DO \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5}$$

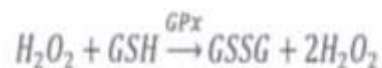
- **DO** : la densité optique.
- **1**: Le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml de l'homogénat + 0,2ml de l'acide salicylique).
- **1,525** : Le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5ml surnageant + 1ml Tris-EDTA + 0,025ml DTNB).
- **13100** : Coefficient d'absorbance (concernant le groupement (-SH) à 412 nm).
- **0,8**: Le volume de l'homogénat.
- **0,5** : Le volume du surnageant trouvé dans un 1,25ml

La concentration de GSH est mesurée par rapport à 1mg de protéine. C'est pour cela ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

3.2.2. Biomarqueurs enzymatiques

a. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **Flohe & Gunzler, 1984**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence du glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de GPx selon la réaction suivante :



- Protocole expérimental

- Préparer les homogénats à partir de 200mg d'organe avec tampon d'homogénéation TP (pH 7,4);
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 10 min;
- Prélever 0.2 ml de surnageant;
- Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM);
- Ajouter 0.2 ml de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4);
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min;
- Ajouter 0.2 ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laissé agir pendant 10 min;
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction;

Matériels et Méthodes

- Mettre le mélange dans un bain de glace pendant 30 min;
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /min;
- Prélever 0.48ml de surnageant;
- Ajouter 2.2ml de solution tampon TBS;
- 4Ajouter 0.32ml de DTNB (1mM);
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante:

$$\text{GPx}(\mu\text{mol. mg de protéine}) = \frac{(\text{DOe} - \text{DOb}) \cdot 0,04}{\text{DOb}}$$

- **DO:** échantillon : Densité optique de l'échantillon.
- **DO étalon:** Densité optique de l'étalon.
- **0.04:** Concentration de substrat (GSH).

- Calcule l'activité GPx

La détermination (calcule) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivant:

- Activité de GSH consommée/min/gr de protéine.
- Blanc=0.04 micro mole de GSH réduit →DOb.
- Extrait=0.04 micro mole de GSH réduit → DOe.

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue) = DOe-DOb

$X = (\text{DOe} - \text{DOb}) \times 0.04 / \text{DO b}$ = quantité de GSH réduit disparue (oxydée) dans 0.2 extrait dans 1ml.

L'activité de la GPx = la quantité de GSH réduit oxydée disparue $\cdot X$ ——— .

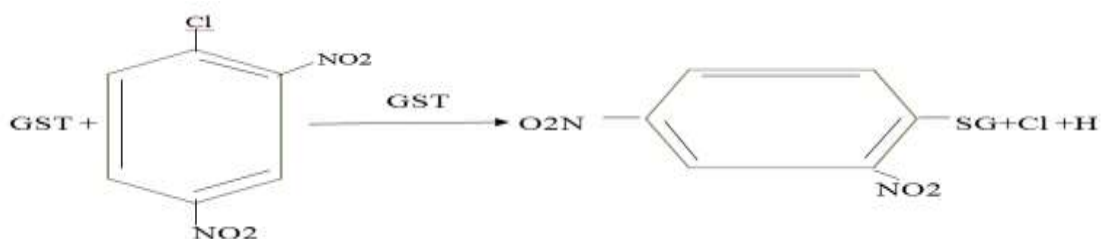
b. Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)

Les glutathion S-transférases appartiennent à une famille d'enzyme multifonctionnelle essentiellement cytosolique, impliqués dans le transport et la biosynthèse intracellulaire, elles catalysent des réactions de conjugaison entre un peptide endogène, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles.

Matériels et Méthodes

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **Habig et al (1974)**, elle mesure la cinétique de formation entre un substrat modèle, le chlorodinitrobenzène (C-DNB) et le glutathion ; Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2, 4 di nitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle.

1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST selon la réaction suivante:



La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes:

- Homogénéisation par 1 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 06).
- L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes.
- Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26 mg CDNB, 153.65mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0.1 M, pH 06)].
- La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.
- La lecture de l'absorbance se fait à 340 nm après 30 s en intervalle de 3 min. La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GST}(\text{nmol GST}/\text{min}/\text{mg protéine}) = \frac{(\text{DO échant}/\text{min} - \text{DO blanc}/\text{min})}{9,6 \times \text{mg de protéine}}$$

- $\Delta\text{DO échantillon} - \Delta\text{DO blanc}$: moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des Blancs par minute.

Matériels et Méthodes

- ϵ : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, ϵ C-DNB=9.6 mM⁻¹.cm⁻¹
- L: Trajet optique de la cuve =1cm.

4. Dosage Des Transaminases

Les transaminases sont des enzymes contenues essentiellement dans le foie et les muscles, mais aussi les reins et le cœur.

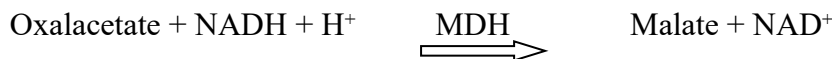
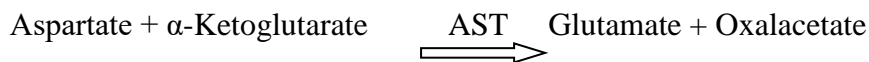
- **4.1. TGO**

Est une enzyme localisée essentiellement dans les cellules des muscles striés (muscles squelettiques et cardiaques), dans l'hépatocyte et l'érythrocyte.

- ✓ **Principe selon le Spinreact**

- ✓

Aspartate aminotransférase (AST) formellement appeler le glutamate oxaloacétate (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amino de l'aspartate pour former cétooglutarate et le glutamate oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) et NADH, H⁺ (Murry, 1984) :



Le taux de diminution de la concentration de NADH, mesurée par photométrie, est proportionnelle à la catalytique d'AST présente dans l'échantillon.

- ✓ **Mode opératoire**

Le prélèvement du sang pour le dosage du TGO s'effectue dans des tubes secs.

- ✓ On prend trois tubes ;
- ✓ On met 1000 μ l du réactif 1 (R1) dans chaque tube ;
- ✓ On met 100 μ l de la solution du standard dans le tube 2, 100 μ l du sérum dans le tube 3 et le tube 1 est un blanc.

- ✓ **La lecture :**

On fait la lecture de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à longueur d'onde de 340 nm.

- ✓ **Calculs :**

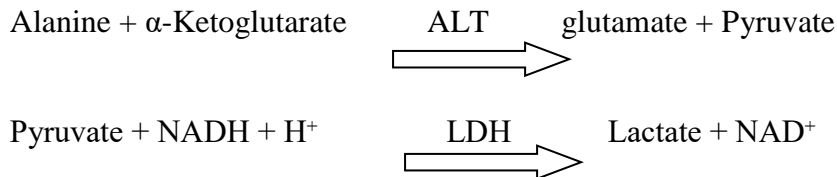
$$\Delta A / \text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST} \quad 36$$

Matériels et Méthodes

- **4.2. TGP**

- ✓ **Principe selon le Spinreact :**

Alanine aminotransférase (ALT) Glutamate pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amino avec alanine pour former glutamate et pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate par lactate déshydrogénase (LDH) et NADH:



Le taux de diminution de la concentration de NADH, mesurée par photométrie, est proportionnelle à la catalytique d'ALT présente dans l'échantillon.

- ✓ **Mode opératoire**

Le prélèvement du sang pour le dosage du TGO s'effectue dans des tubes secs. On prend trois tubes :

- ✓ On met 1000 μl du réactif 1 (R1) dans chaque tube ;
- ✓ On met 100 μl de la solution du standard dans le tube 2, 100 μl du sérum dans le tube 3 et le tube 1 est un blanc.

- ✓ **La lecture**

- ✓ On fait la lecture de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre à longueur d'onde de 340 nm

- ✓ **Calculs :**

$$\Delta A / \text{min.} \cdot 1750 = \text{U/L de ALT}$$

5. Etude Statistique

- Ces calculs ont été effectués à l'aide de logiciel MINITAB d'analyse et de traitement statistique des données (version 18.01).
- Les résultats obtenus sont traités sous la forme de (Moyenne \pm Ecartype) et en suites ont représenté en des graphes à l'aide de Microsoft office Excel 2010.
- La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de Dunette et de Tukey.
- La valeur trouvée par le calcul du test peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :
 - $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative ns
 - $0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative *
 - $0,01 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative **
 - $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative ***
- Nous avons déterminé, grâce aux statistiques élémentaire ; les paramètres statistiques pour chaque lot expérimental. Les données ont été analysées par l'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA I).

Résultats

1. Effet du l'Imidaclopride (IMI) sur les paramètres biochimiques dans le foie chez les rats

1.1. Effet Sur Le Taux Des Glucides

Les variations du taux des glucides dans le foie chez les rats témoins et les rats traités sont représentées dans la figure 13 et le tableau 03.

Les résultats obtenus montrent une augmentation de la teneur hépatique en glucide avec une différence très hautement significative ($p < 0,001$) chez les rats traités par l'IMI (50mg/kg) et d'une façon hautement Significative chez les lots traités par l'IMI (5 mg/kg) par rapport au témoin.

Tableau 03: Variations de taux des glucides hépatiques chez les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg
Glucide ($\mu\text{g/g}$)	12,18 \pm 0,34	17,17 \pm 0,28 **	20,58 \pm 0,55 ***
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification.			

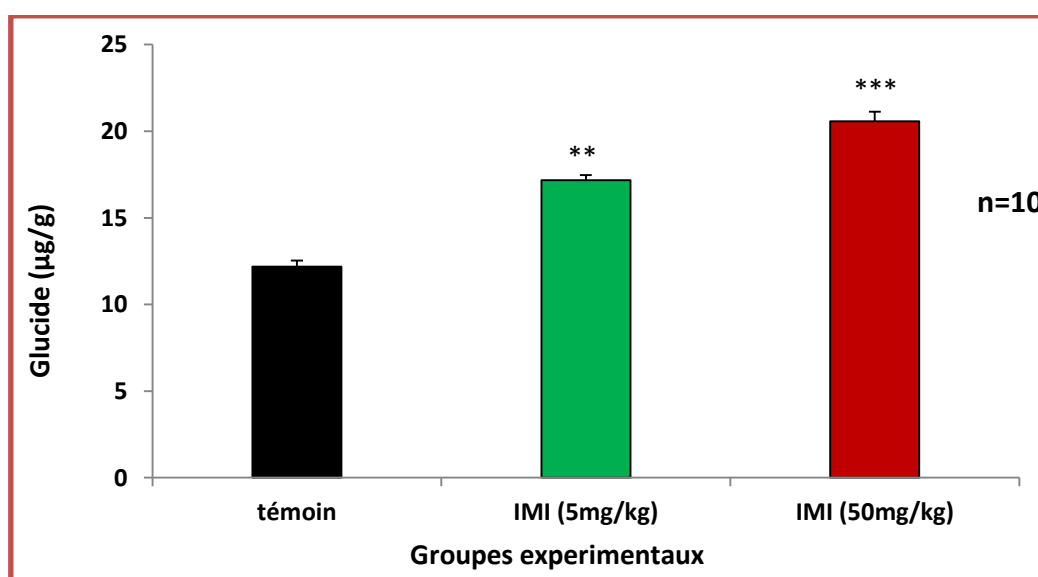


Figure 13: Variations du taux des Glucides ($\mu\text{g/g}$) chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.

Résultats

2.2. Effet sur le taux des lipides

Variations de la teneur hépatique en lipide chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI) sont représentées dans la figure 14 et le tableau 04.

Nous remarquons que le taux des lipides dans les lots traités par l'IMI (5mg/kg) a diminué d'une façon significative et nous remarquons une diminution très hautement significative chez les lots traités par l'IMI (50mg/kg) par rapport au témoin.

Tableau 04 : Variation de taux des lipides hépatiques chez les rats dans les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg
Lipides ($\mu\text{g/ml}$)	15,51 \pm 0,21	13,52 \pm 0,64*	8,58 \pm 0,83***

* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$).
** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$).
*** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$).
P : Seuil de signification.

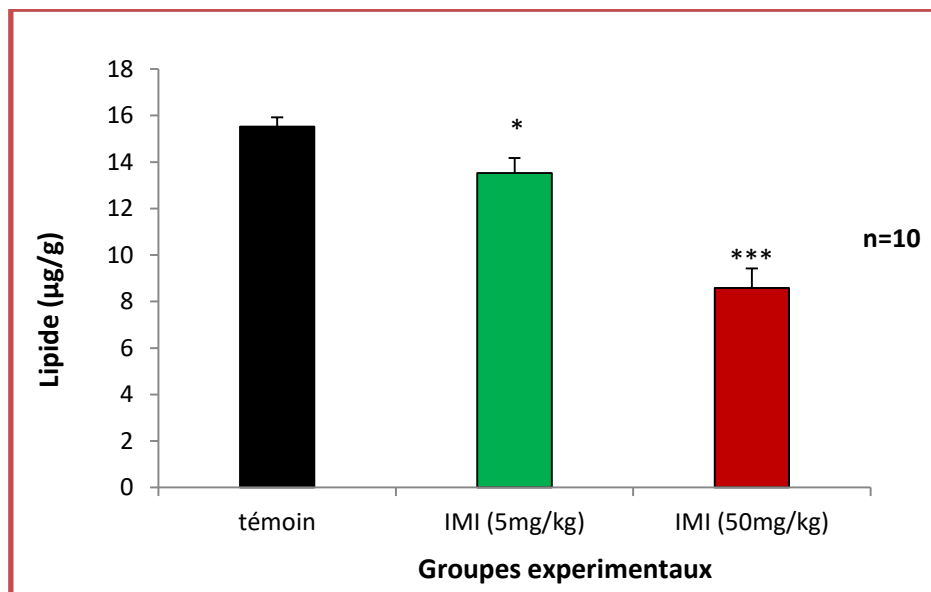


Figure 14 : Variation de la teneur hépatique en lipide chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.

Résultats

2. 3. Effet sur le Taux Des Protéines

Variations de la teneur hépatique en protéines chez les rats témoins et traités par l'IMI sont représentées dans la figure 15 et le tableau 05

Les résultats présentés dans la figure 15 et le tableau 05 montrent que le taux des protéines hépatique des lots traités avec l'IMI (50mg/kg) a augmenté d'une façon très hautement significative et nous remarquons une augmentation hautement significative chez les lots traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport aux témoins.

Tableau 05: Variations du taux de protéine hépatique des rats dans les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg
Protéines (mg/g)	1.517±0.115	2.764±0.119**	3.8625±0.125***
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification.			

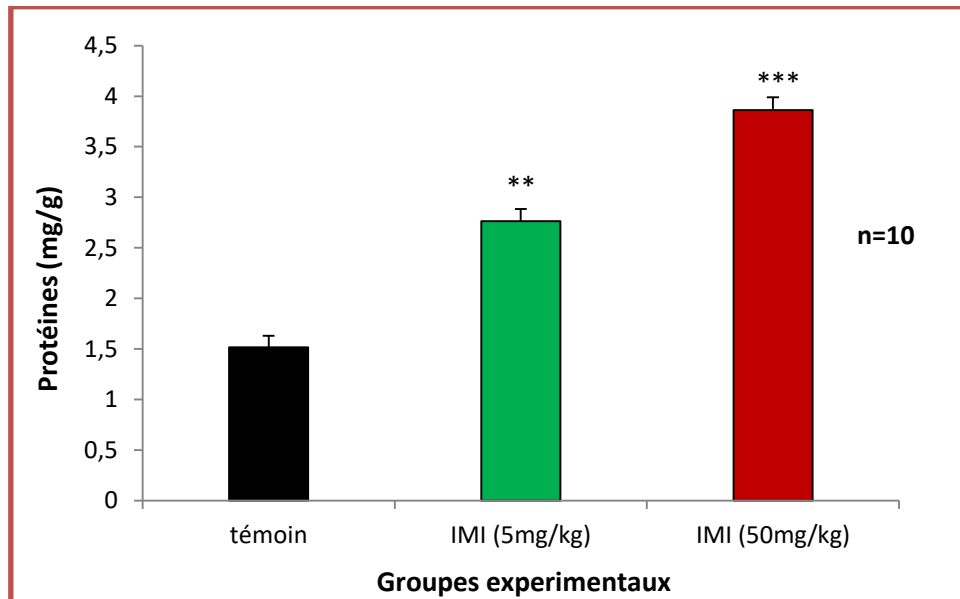


Figure 15: Variations des taux de protéine hépatique chez les groupes témoins et traités après 40 jours de traitement.

Résultats

2. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur les paramètres du stress oxydatif dans le foie chez les rats

3.1. Effet sur le taux de malondialdéhyde (MDA)

D'après les résultats présentés dans la figure 16 et tableau 06. On observe une augmentation très hautement significative ($P=0.000$) du taux de MDA hépatique chez les rats traités par l'IMI (50mg/kg) et une augmentation significative chez les rats traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport aux témoins.

Tableau 06 : Taux de MDA hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg
MDA ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine)	1.489 \pm 0.107	2.201 \pm 0.134*	4.016 \pm 0.126***
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification.			

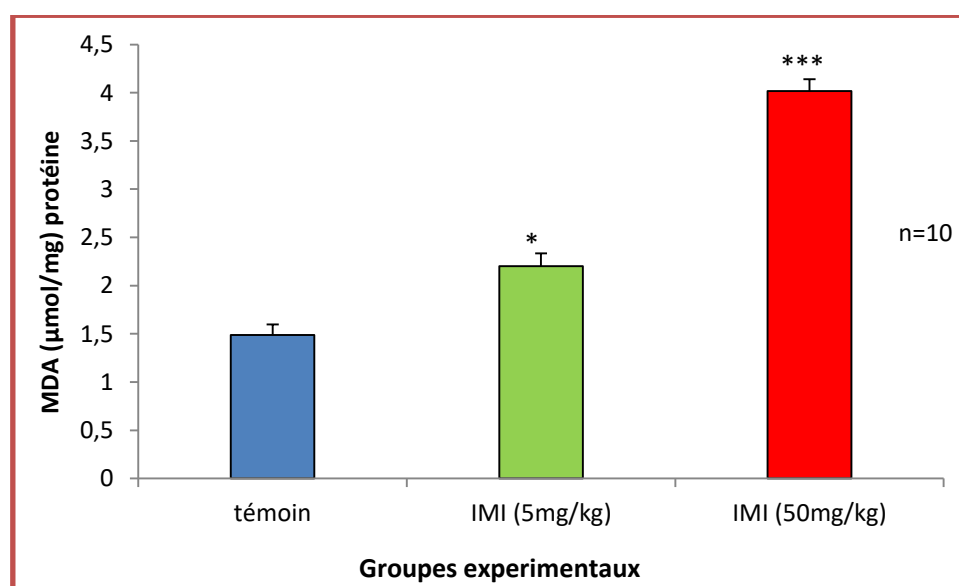


Figure 16: Variations du taux de MDA hépatique ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine) chez les groupes témoins et traités après 40 jours.

Résultats

3.2. Effet sur le taux de GSH

La variation de taux de GSH chez les rats traités et témoins est présentée dans le tableau 07 et la figure 17.

Les résultats obtenus présentent une diminution très hautement significative du taux de GSH au niveau des lots traités par l'Imidaclopride (IMI) par rapport aux témoins.

Tableau 07: Variation du taux de GSH hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5 mg/kg	IMI 50 mg/kg
GSH (mol/mg de protéine)	6,5313E-05±3,0611E-06	4,4822E-05±2,3111E-06 *	3,0319E-05±4,0111E-06 ***
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification			

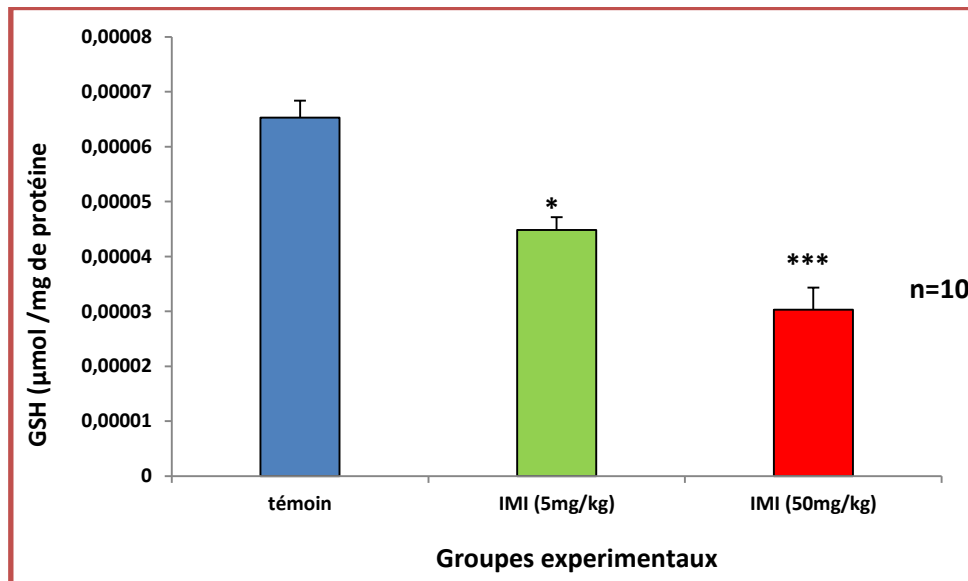


Figure 17 : Variations du taux de GSH ($\mu\text{mol/mg}$ protéine) dans le foie chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.

Résultats

3.3. Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase)

Le tableau 08 et la figure 18 présentent la variation de l'activité enzymatique de GST dans le foie chez les rats témoins et traités.

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) de l'activité GST chez les lots traités par l'IMI (50 mg/kg) et une augmentation significative de l'activité GST chez les lots traités par l'IMI (5 mg/kg) par rapport aux témoins.

Tableau 08: activité enzymatique de GST hépatique des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5 mg/kg	IMI 50 mg/kg
GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine)	0,03177 \pm 0,0018	0,04263 \pm 0,0026*	0,06341 \pm 0,0039***
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification			

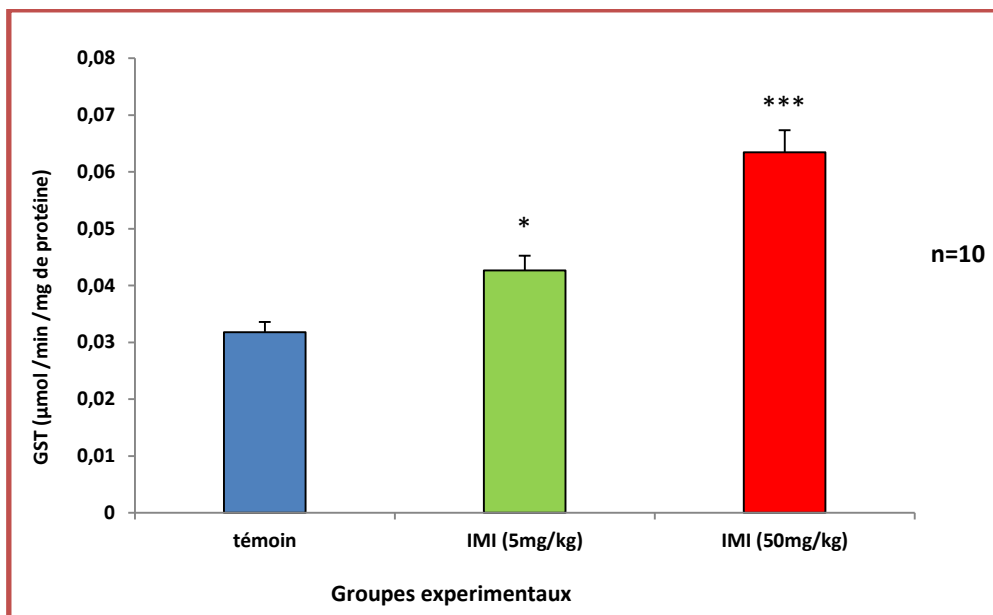


Figure 18: Activité enzymatique de GST hépatique chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.

Résultats

3.4. Effet sur l'activité de GPx

Le tableau 09 et la figure 19 présentent la variation de l'activité enzymatique de GPx dans le foie chez les rats témoins et traités par l'IMI.

Nos résultats montrent une diminution très hautement significative ($p=0.000$) par rapport au témoin de l'activité enzymatique de GPx hépatique chez les rats traités par le L'IMI.

Tableau 09: Variation d'activité enzymatique de GPx hépatique chez les rats dans les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg
GPX ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine)	0.415 ± 0.017	$0.3005 \pm 0.024^{**}$	$0.210 \pm 0.021^{***}$

* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$).
** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$).
*** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$).
P : Seuil de signification.

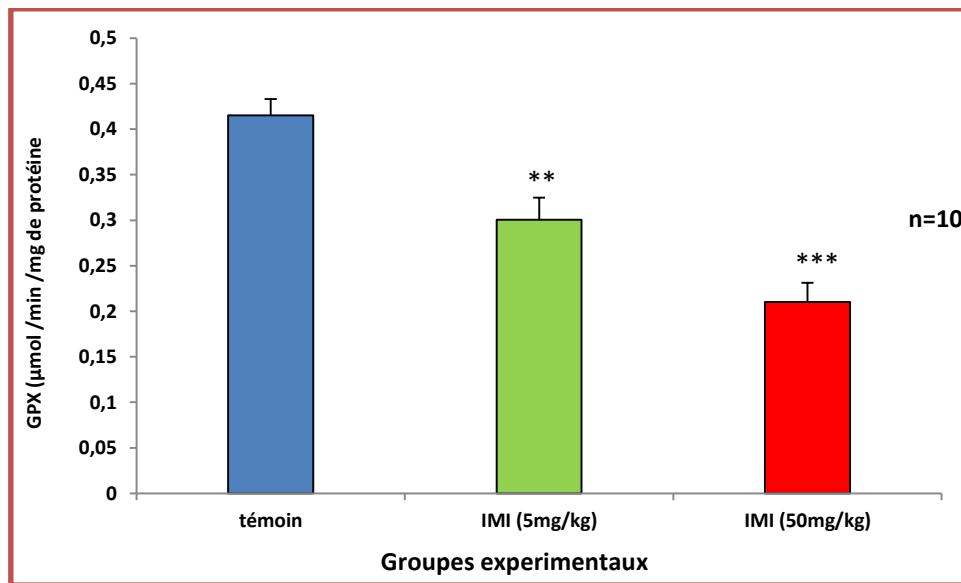


Figure 19 : Activité enzymatique de GPx hépatique ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les rats témoins et traités après 40 jours de traitement.

Résultats

II .1.2.4. Variation de taux du TGO (UI/l) traités par l'Imidaclopride (IMI)

Le tableau 10 et la figure 20 représentent les effets de l'Imidaclopride (IMI) sur le taux de TGO (UI/l).

Nos résultats signalent une augmentation du taux de TGO (UI/l) chez les lots traités par l'IMI par rapport aux témoins au niveau du foie.

Tableau 10: Variations de taux de TGO dans les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg
Taux du TGO (UI/l)	69,051±3,032	83,9±2,13*	98,9±4,02***

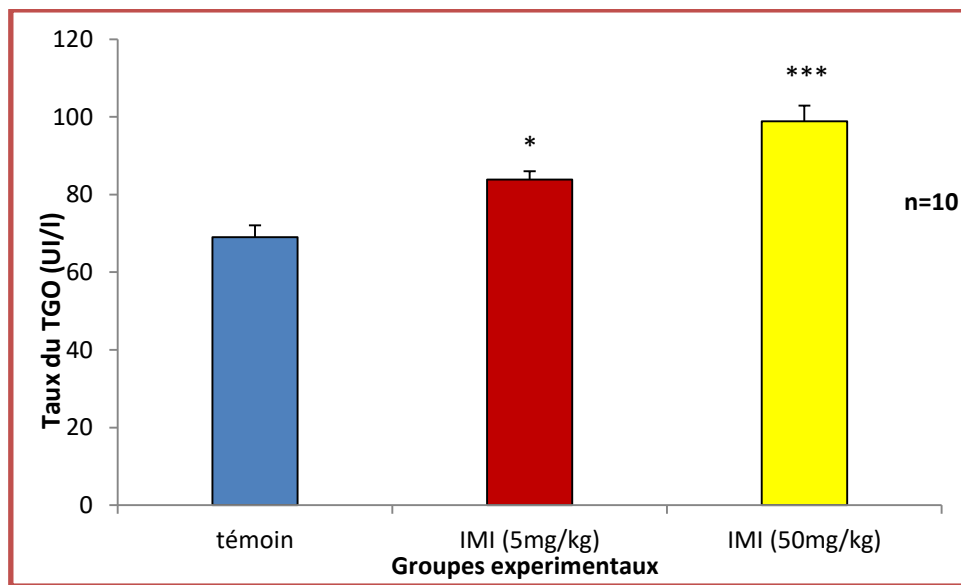


Figure 20 : Les effets de l'Imidaclopride (IMI) sur la concentration du taux de TGO.

Résultats

II .1.2.5. Variation du taux du TGP (UI/l) traités par l'Imidaclopride (IMI)

Le tableau 11 et la figure 21 représentent les effets de l'Imidaclopride (IMI) sur le taux de TGP (UI/l).

Nos résultats signalent une augmentation significative du taux de TGP (UI/l). Chez les lots traités par l'IMI par rapport aux témoins.

Tableau 11 : Variations du taux de TGP dans les différents lots expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI 5mg/kg	IMI 50mg/kg
Taux du TGP (UI/l)	23,7±1,001	30.3±1.2*	34.22±0,79**

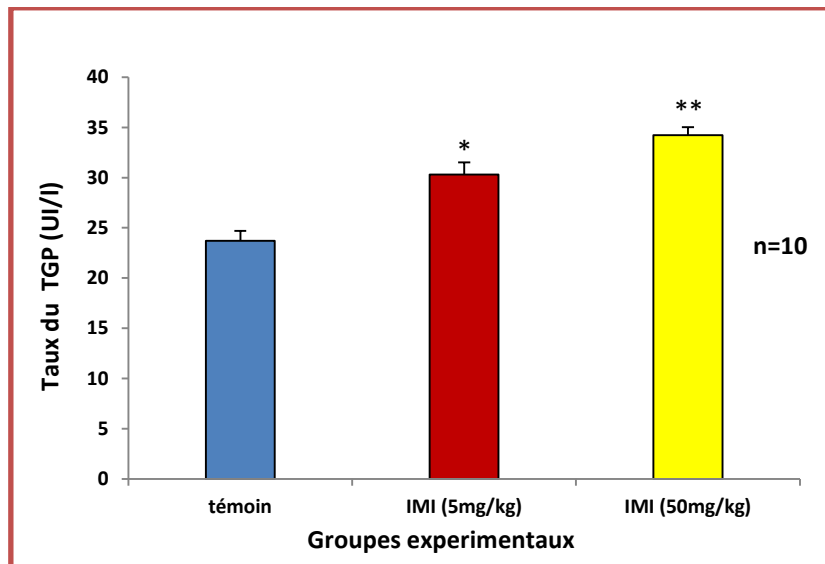


Figure 21 : Les effets de l'Imidaclopride (IMI) sur la concentration du taux de TGP.

Discussion

Le monde agricole a connu une révolution qui l'a progressivement fait passer à une activité industrielle. L'augmentation des rendements s'est faite en parallèle à une utilisation intensive de produits phytosanitaires. **(Lushchak et al, 2018).**

L'imidaclopride (IMI) est un insecticide appartenant à une nouvelle famille de composés, les néonicotinoïdes, utilisé dans un large éventail d'activités agricoles dans le monde. Cependant, il en résulte des perturbations de l'écosystème et des signes de toxicité chez l'homme et les animaux. **(García et al, 2018).**

En fait, le stress oxydant est le résultat des processus de multi-étapes causant par un déséquilibre dans la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants (enzymatique et non enzymatique) et menant aux dommages tissulaires conduisant en premier lieu à de nombreuses maladies et finalement à l'apoptose. **(Lee et al, 2016)**

La majorité des recherches ne concernaient que l'investigation des effets toxiques des xénobiotiques, tandis que les mécanismes et les agents de détoxification et de neutralisation n'ont pas encore pris leur valeur comme des objectifs des études expérimentales. C'est pour cela, dans ce travail, nous sommes intéressés, d'évalué la toxicité hépatique induite par le pesticide (L'imidaclopride), sur quelques paramètres biochimiques plus spécifiquement et du stress oxydant chez les rats *Wistar*.

1. Effets de pesticide (L'imidaclopride) sur les paramètres hématologiques Dysfonctionnement hépatique (augmentation du taux sanguin du TGO, TGP)

Le foie est le principal organe de détoxification, il est capable de neutraliser toutes les substances toxiques. Vu son rôle dans la transformation des xénobiotiques à titre d'exemple l'imidaclopride, où le foie présente un grand risque de dommages.

Le traitement des rats par l'imidaclopride induit une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de l'activité enzymatique des transaminases (AST et ALT) dans le tissu hépatique. Ces enzymes sont utilisées comme des indicateurs des dommages cellulaires et de l'altération de la perméabilité membranaire **(Yap et Aw, 2010).**

Discussion

C'est probablement en raison d'une exposition prolongée aux pesticides quand le niveau d'enzymes a augmenté pendant la détoxification des pesticides, qui peut éventuellement être basée sur la mutation de gènes responsables de la synthèse de ces enzymes (**Toor et al, 2013**). Cela peut être dû à la dégénérescence et à la nécrose des hépatocytes, qui attribuent une perméabilité accrue de la membrane cellulaire qui entraîne la libération de transaminases dans la circulation sanguine (**Soujanya et al, 2013**).

Ces résultats sont en accord avec les investigations d'**Elberry et al (2010)** sur des rats intoxiqués et non traités qui signalent une augmentation de la concentration sérique de TGO, TGP.

2. Effet du l'Imidaclopride (IMI) sur les métabolites au niveau du foie.

2.1 Effet sur le teneur des lipides

Nos résultats révèlent une diminution des lipides hépatiques chez les rats traités par l'IMI par rapport aux témoins, cette diminution peut s'expliquer par la dégradation des lipides hépatiques par l'activation de la peroxydation lipidique, cette voie stimulé par des radicaux libres en cas de stress oxydative générée par l'Imidaclopride (IMI) notre résultat confirmé par le résultat de dosage du MDA dans le foie (augmentation très hautement significative) chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) et cela a été démontré par celui de **Ndonwi et al, 2019** qui a rapporté la diminution du taux de lipide qui ont montré une forte peroxydation lipidique dans différentes régions du cerveau.

2.2 Effet sur le teneur des protéines

Les protéines sont des constituants organiques importants des cellules animales. Ils jouent un rôle essentiel dans le processus d'interactions entre les milieux intra et extracellulaires faisant partie de la membrane cellulaire (**Amutha et al, 2002**) , et ils sont requises par un organisme dans la construction de tissus, la réparation des organites cellulaires et aussi le métabolisme cellulaire (**Yeragi et al, 2000**) .

L'analyse des résultats a montré une augmentation hautement significative des protéines hépatiques chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI 50mg/kg) et une augmentation hautement significative chez les rats traités par l'IMI 5mg/kg par rapport aux témoins.

Discussion

On peut expliquer cette augmentation par le fait que l'Imidaclopride (IMI) a stimulé l'apparition des protéines de stress (ou protéines de résistances). Où ils peuvent agir avec les groupements thiols (-SH) des protéines hépatiques et réduit le métabolisme de ces substances, donc favorisé le stockage pour la deuxième voie de métabolisme.

Aussi notre hypothèse est que l'augmentation du taux de protéines totales pourrait être liée au déclenchement du processus de détoxification mis en jeu par ce système de régulation qui se compose d'enzyme, des protéines et de molécules anti oxydantes (Nzengue, 2008). Ce qui concorde avec les études d'Amigo *et al*, 1999 Et qui est en concorde aussi avec les travaux d'Oberdorster *et al*, 1994 qui ont mis en évidence une augmentation très hautement significative du taux de protéines totales sous l'effet d'un stress chimique chez des modèles biologiques différents (têtards, protistes ciliés, lapins).

2.3 Effet sur le teneur des glucides

Les glucides sont présents dans l'organisme sous différentes formes, la forme la plus courante est le glucose, obtenu à partir des sucres simples ou complexes apportés par l'alimentation, ils servent de carburant rapidement utilisable par les organes (Esterbauer *et al*, 1992). De plus, les glucides sont une source primaire et immédiate d'énergie (Albert *et al*, 1986).

Les résultats obtenus montrent une augmentation de la teneur hépatique en glucide avec une différence très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI) par rapport au témoin.

On peut expliquer cette augmentation par l'inhibition enzymatique provoquée par le l'Imidaclopride (IMI) qui se traduit par une préservation de l'énergie. Dans les conditions de stress, les réserves de glucides sont épuisées pour satisfaire les demandes énergétiques. Ces résultats rejoignent ceux (El-Wakil *et al*, 1991).

Cette augmentation est probablement justifiée aussi par l'effet direct sur l'Hexokinase, enzyme responsable de la phosphorylation du glucose en glucose 6-phosphate et le déclenchement du métabolisme du glucose, est une enzyme principale chez les mammifères. Les iso enzymes de l'hexokinase existent chez tous les groupes du règne animal ; chez la moule marine du genre *Mytilus*, l'activité de l'hexokinase et son rôle clé dans le métabolisme du glucose ont été identifiés dans différents tissus (Canesi *et al*, 1998).

Discussion

D'autre part, Ces résultats désaccords avec ce qui a été rapporté dans les études toxicologiques résumées dans le rapport de **FAO/OMS (2010)**. Indiquant une réduction des concentrations plasmatiques en glucose chez des rats mâles traités avec 84,9 mg/kg de thiaméthoxame pendant 90 jours. Selon **El-Aoufi** et ses collaborateurs **(2008)**, il existe une forte corrélation entre le métabolisme hépatique et l'homéostasie du glucose. Le rôle du foie est, en effet, central et crucial dans la régulation du métabolisme des carbohydrates. Le stress est également connu pour l'augmentation relative du sucre sanguin dû au sécrétions des corticostéroïdes (**Kioukia et al, 2002**) Selon **Surwit (1992)**, le stress augmente la production hépatique de glucose et diminue sa clairance périphérique. L'un des mécanismes proposés pour l'hyperglycémie induite par les organophosphoré "chlorpyrifos" est l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) qui régule le processus de synthèse et de sécrétion des glucocorticoïdes par le cortex surrénalien (**Rahimi et Abdollahi, 2007**).

3. Effet du l'Imidaclopride (IMI) sur les paramètres du stress oxydatif dans le foie chez les rats

3.1 Effet sur le taux de Malondialdéhyde (MDA)

Les ERO sont capables d'induire une peroxydation lipidique, il s'agit d'une dégradation des acides gras polyinsaturés en sous-produits parmi les : le MDA (**Misra et al, 2009**).

Le malondialdéhyde (MDA) est considéré comme un produit final typique de la peroxydation lipidique d'acides gras polyinsaturés et un bon indicateur du stress oxydatif (**Chen et al, 2017**).

Dans notre étude, nous avons trouvé que l'administration de l'IMI provoque un stress oxydatif révélé par une augmentation très hautement significatif ($p < 0.001$) du MDA hépatique qui est un marqueur de la peroxydation lipidique.

Un niveau accru de MDA hépatique est bien connu comme un indicateur de lésions tissulaires et d'altération de la fonction cellulaire. En fait, ces changements pathologiques apparaissent en raison de la formation de ROS ou des radicaux libre.

Ces résultats sont confirmés par la diminution très hautement significative des lipides totaux dans le tissu hépatique (**Données présentées**).

Et sont accord en le travail de **Fetouiet al, (2009)** qui utilisé lambda cyhalothrine pendant 03 semaines. Aussi d'autre chercheurs **Lui et al, (2010)** et **Chiali et al, (2013)** qui montrent une augmentation de la concentration de MDA tissulaire chez des rats exposées à

Discussion

des faibles doses de la métribuzine. Des résultats identiques ont été obtenus par **Duzguneret Erdogan et al, 2012**.

3.2 Effet sur le taux de GSH

Le GSH est l'un des tripeptides les plus abondants, largement distribué au niveau des hépatocytes. Ses fonctions sont principalement concernées par le déplacement de radicaux libres tels que H₂O₂ et radicaux de superoxyde (**Fang et al, 2003, Ogeturka et al, 2005**).

Le glutathion constitue la première ligne de défense contre les radicaux libres (**Ogeturka et al, 2005**). Certains des rôles importants de glutathion sont la réduction ou l'inactivation des ROS par la formation de glutathion disulfure (GSSG) et la conjugaison du glutathion réduit (GSH) pour l'élimination des xénobiotiques **Arora et al, (2016)** et **Rjeibi (2016)**.

Les résultats obtenus présentent une diminution très hautement significative du taux de GSH chez les lots traités par l'Imidaclopride par rapport aux témoins, Ce résultat est en accord par les études de **Dexter et al, (1989)** et **Dib et al, (2002)**.

Grâce à la fonction thiol de la cystéine, le glutathion est un composé important pour le maintien de l'état réduit de la cellule. Selon plusieurs auteurs, la conjugaison du GSH à des pesticides ou aux métabolites in vivo pourrait être la voie majeure de leur détoxification. (**Agrawal et al, 1991**) et (**El-Sharkawy et al, 1994**). On suppose donc que le glutathion a été utilisé pour la détoxification des pesticides administrés, ce qui a engendré une baisse des taux de ce dernier.

D'autre part, la réduction du taux de GSH peut être expliquée par l'augmentation de son utilisation par la GST dans les réactions de conjugaisons avec les insecticides testés, ceci est en accord avec nos résultats qui indiquent une induction de la GST suite aux traitements testés. **Canesi et al, (1998)** ont également constaté une diminution du taux de GSH dans la glande digestive de la moule *Mytilus galloprovincialis* exposée aux contaminants.

Discussion

3.3 Effet sur l'activité de GPx

La GPx est l'un des systèmes de défense antioxydant très puissant, il réduit l' H_2O_2 en H_2O et protège l'organisme contre l'effet cancéreux de cette substance (**Zhu et al, 2010**).

Les résultats obtenus ont montré que il y a une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) de l'activité enzymatique de GPx chez les lots traitée par l'Imidaclopride (IMI) aux doses (5mg/kg/jour, 50mg/kg/jour) par rapport au groupe témoin, ce qui confirme l'état de stress oxydant induit par ces pesticides dans le tissu hépatique. Ces résultats accord avec d'autres travaux sur l'impact des pyréthrinoïdes et néonicotinoïdes sur le cerveau **Beghoul et al, 2017**. Et en accord avec les travaux de **Gasmi et al, 2018**. mais désaccord que ceux d'**Oloyede et al, 2011**.

Cette diminution de l'activité enzymatique de GPx est due à cause de les molécules des pesticides ou formation des complexes avec les protéines d'une manière générale et endommager les enzymes y compris ceux à l'activité antioxydant. (**Boumaza, 2017**) Et d'autre part cette diminution due par la surproduction de peroxyde d'hydrogène qui provoque une inhibition enzymatique de la GPx.

3.4 Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase)

La GST joue un rôle important dans la protection contre le stress oxydatif (**Hu, 2019**) c'est l'enzyme majeure pour la détoxification d'une grande variété de xénobiotiques (**Fujioka, 2007**).

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GST) hépatique chez les lots traités par l'IMI par rapport aux groupes témoins.

L'augmentation de l'activité de cette enzyme s'explique par une inhibition de la capacité de détoxification du foie en réponse à l'élévation des concentrations des radicaux libres. Et elle est associée à la peroxydation lipidique qui est confirmée par le taux élevé du MDA (**Clasen, 2018**). Nos résultats sont accord avec l'étude **Kehili et al, 2017** et désaccord avec **El-Gendy et al, 2010** et **Yang et al, 2020** qui indiquent une baisse non significative ($P > 0.05$) du taux hépatique en GST chez les rats traités par IMI par rapport aux sains témoins.

Conclusion

Conclusion & Perspective

Aujourd'hui, les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque majeur pour la santé de l'homme et pour son environnement. Par ailleurs, de nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies chez les populations concernées.

Plusieurs études in-vivo ont découvert que les néonicotinoïdes est capable d'induire une toxicité au niveau des différents organes.

L'ensemble de nos travaux a permis de prouver que l'imidaclopride a une toxicité remarquable au niveau du foie.

Les résultats obtenus dans la présente étude, ont permis de conclure que l'exposition sub-chronique des rats à l'imidaclopride provoqué une induction du système de détoxification ainsi qu'une hépatotoxicité, nous avons trouvé qu'il y'a :

- Une perturbation au niveau des paramètres métaboliques évalué (lipides. Protéines. Glucides) et sur les paramètres de stress enzymatiques et non enzymatiques par diminution hautement significative dans l'activité de GPx et un accroissement significatif du niveau de MDA indiquant l'augmentation de la peroxydation lipidique et diminution d'une façon significative dans le taux de GSH ainsi que une augmentation non significative dans l'activité de GST.
- De plus, des augmentations hautement significatives des taux sériques ASAT, ALAT. (Paramètres hématologiques).
- ❖ Comme perspective pour ce travail, nous croyons qu'il est important que :

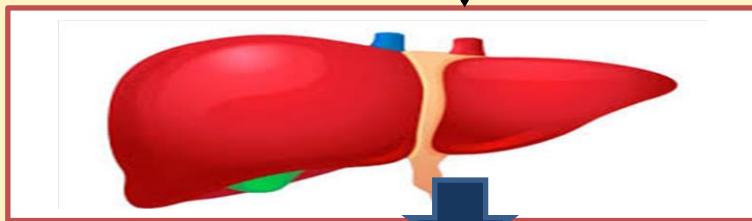
Cette étude reste préliminaire, elle nécessite d'autres études à l'échelle moléculaire pour développer le mécanisme de la toxicité hépatique des néonicotinoïdes et en particulier de l'imidaclopride et à déterminer la toxicité à d'autres niveaux (étude de génotoxicité pour la recherche d'un dommage d'ADN). Et autres études qui utilisent des doses faibles proches de la NOALE dans une période prolongée.

Hypothèse

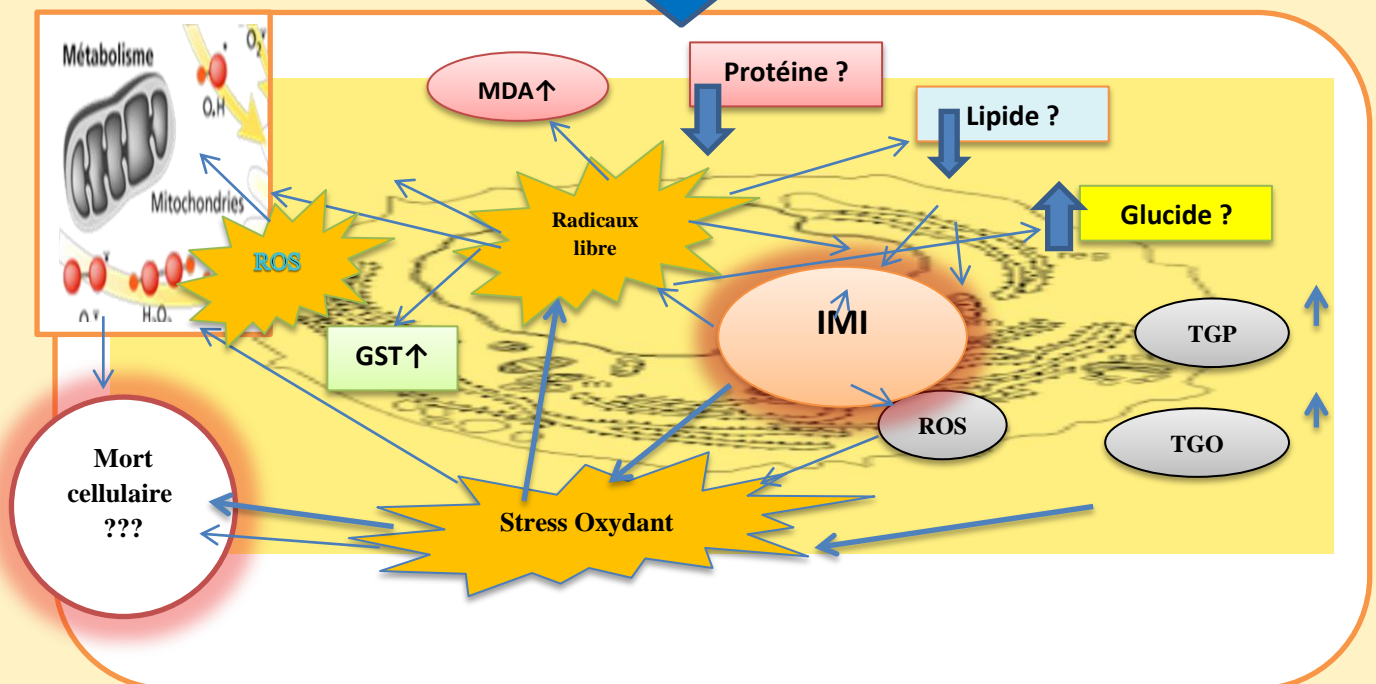
Traitement

Imidaclopride (IMI)

Toxicité



Cellule Hépatique



References

bibliographiques

Référence

- **Agrawal D, Sultana P, Gupta GSD.** Oxidative damage and changes in the glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane. *Food Chem Toxicol* 1991 ; 29 : 459-62.
- **AJERMOUN, N., AGHRIS, S., FARAHI, A., LAHRICH, S., SAQRANE, S., BAKASSE, M. & EL MHAMMEDI, M. A. J. I. J. O. E. A. C. 2021.** Electrochemical reduction of neonicotinoids insecticides catalysed by metallic silver: case of the detection of imidacloprid in tomato and orange juices. 101, 585-597.
- **Albert B., Bray D., Lewis D., Raff M., Roberts K., Watson J. 1986.** Biologie moléculaire de la cellule. Edition Flammarion. p: 256.
- **Al-Sayeda H, (2007).** Transfert d'un insecticide systémique, l'imidaclopride, chez la tomate : implication du transport phloémien. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, 1-69.
- **Aminata, N. (2006).** Etude de la phytochimie et des activités pharmacologiques de *syzygium guineense* willd. (MYRTACEAE), Thèse de doctorat en pharmacie, université de BAMAKO
- **ARAKAWA, Y., MORIYAMA, M. & ARAKAWA, Y. J. H. R. 2004.** Liver cirrhosis and metabolism (sugar, protein, fat and trace elements). 30, 46-58.
- **Atkin MA, Gasper A, Ullegaddi R, et al.**— Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma : response to antioxidants in vitro and to antioxidants supplementation. *Clin Chem*, 2005, 51, 2138-2144.
- **Barouki, R. (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/ Sciences*, 3 (22), 266272. doi : 10.1051/medsci/2006223266
- **Biologie de la peau**, publié le samedi 16 juin 2012 par Michel Démarchez et Marie Reynier.
- **BIZERRA, P. F., GUIMARÃES, A. R., MIRANDA, C. A., CONSTANTIN,**
- **Boland;I.Koomen;J.Vanlidth;D.E.Jeude;J.Oudeans.(2004).** Les pesticides composition, utilisation et risque. [éd.] Agrodok.
- **Boumaza .A. 2017.** Etude analytique et épidémiologique de la toxicité des pesticides utilisés dans l'Est Algérien. Thèse Doctorat, Université Mentouri de Constantine. 98p. □ **EL-GENDY, K. S., ALY, N. M., MAHMOUD, F. H., KENAWY, A. & EL-**
- **Bradford M. 1976.** Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*: (72). P: 248.
- **Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charay M.P. & Coquet Y. (2005).** Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricole. p: 637
- **Canesi L., Ciaccia C., Piccolib G., Stocchib V., Viarengo A., Gallo G. 1998.** In vitro and in vivo effects of heavy metals on mussel digestive gland hexo kinase activity: the role of glutathione. p: 261–268.
- **Castaing , D; Veilhan , L.A. (2006).** Anatomie du foie et des voies biliaires. (E. SAS, Éd.) Paris.
- **Charvet R, Katouzian-Safadi M, Colin ME, Marchand PA, Bonmatin JM,** « Systemic insecticides: new risk for pollinator insects » *Ann Pharm Fr.* 2004 Jan; 62(1):29-35
- **Chiali .F .Z., Merzouk H., Merzou .S. A., Medjdoub A. and Narce M. 2013.** Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 106 .38–44.
- **Chiu, Y. J., Chou, S. C., Chiu, C. S., Kao, C. P., Wu, K. C., Chen, C. J., Tsai, J. C. & Peng, W. H. (2017).** Hepatoprotective effect of the ethanol extract of *Polygonum orientale* on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26 (2018), 369-379. doi : 10.1016/j.jfda.2017.04.007
- **Comhair, & Erzurum. (2002).** Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases, *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 283 (2), 246-255. doi.org/10.1152/ajplung.00491.2001

Référence

- **Dana G, Benichou C.** Causality assessment of adverse reactions to drugs. I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings : application to drug-induced liver injuries. *J Clin Epidemiol* 1993;46 :13-23-30.
- **Daphne gnidium,** Evaluation in vivo de l'activité hépatoprotectrice de l'extrait aqueux L. face à une hépatotoxicité induite par le CCl4. 2006
- **Deby-Dupont, G., Deby, C. & Lamy, M. (2002).** Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène. *Réanimation*, 11(1), 28-39. doi : 10.1016/S1624-0693(01)00208-0
- **Delattre, J., Beaudoux, JL. & Bonnefont, R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris, 353 - 376. En ligne : <https://www.lavoisier.fr/livre/sciences-de-lavie/radicaux-libres-et-stress-oxydant/delattre/descriptif-9782743009731>
- **Delattre, J., Beaudoux, JL. & Bonnefont, R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris, 353 - 376. En ligne : <https://www.lavoisier.fr/livre/sciences-de-lavie/radicaux-libres-et-stress-oxydant/delattre/descriptif-9782743009731>
- **Descat F.2002.** Hématologie Du Rat: Hémogramme et Myélogramme. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.
- **DHAR, D., BAGLIERI, J., KISSELEVA, T., BRENNER, D. A. J. E. B. & MEDICINE 2020.** Mechanisms of liver fibrosis and its role in liver cancer. 245, 96108.
- **Douris P.C., Elokda A.S., Handrakis J.P., Principal S., et al. 2009.** Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. *J Strength Cond Res*. 23(5).p: 1518-23.
- **DUZGUNER, V. & ERDOGAN, S. 2012.** Chronic exposure to imidacloprid induces inflammation and oxidative stress in the liver & central nervous system of rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 104, 58-64.
- **DUZGUNER, V. & ERDOGAN, S. 2012.** Chronic exposure to imidacloprid induces inflammation and oxidative stress in the liver & central nervous system of rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 104, 58-64.
- **Elkhansa Yahia.(2016).** effet de certains perturbateurs endocriniens (pesticides) sur la reproduction chez le rat wistar. thèse de doctorat en biologie animale et environnemental.
- **El-Sharkawy AM, Abdel Rahman SZ, Hassan AA, Gabr MH, ElZoghby SM, ElSewedy SM.** Biochemical effects of some insecticides on the metabolic enzymes regulating glutathione metabolism. *Bull Environ Contam Toxicol* 1994 ; 52 : 505-10.
- **El-Wakil H.B., Radwan M.A. 1991.** Biochemical studies on the terrestrial Environmental Science and Pollution Research
- **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jurgens G. 1992.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. p :341-349.
- **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jurgens G. 1992.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. p :341-349.
- **Evaluation of the protective role of vitamin C in Imidacloprid-induced hepatotoxicity in male Albino rats.** *Journal of natural science, biology, and medicine*, 4, 63.
- **Expérimental and Toxicologic Pathology** 62 .51–257. 2002
- **Favier A. (1997).** Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annales de Biologie Clinique*.pp : 9-16.
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115. En ligne: <http://www.andrecontrelasla.be/IMG/pdf/Favier.pdf>

Référence

- **FAVIER, A.** Stress oxydant et pathologies humaines. Annales pharmaceutiques françaises, 2006. Elsevier, 390-396.
- **Flament, JB., Delattre, JF., & Hidden, G. (1982).** The Mechanisms Responsible for Stabilising the Liver. *Anatomia Clinica*, 4 (2), 125-135. Doi : 10.1007/BF01800622.
- **Flohe & Gunzler. 1984.** Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol.* (105). P: 114-121.
- **Futura-sciences, planète ;** developpement-durable-neonicotinoides-14365 ; 2001-2022.
- **Gandillet, A. (2004).** Evaluation de la cinétique de régénération hépatique et de l'efficacité de transplantation d'hépatocytes dans différents modèles murins d'insuffisance hépatique. Thèse de doctorat en sciences du vivant, Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie. l'Université Louis Pasteur Strasbourg I, Strasbourg, France.
- **Ganesaratnam K. Balendiran, Rajesh Dabur et Deborah Fraser,** « The role of glutathione in cancer », *Cell Biochemistry and Function*, vol. 22, no 6, novembre 2004, p. 343–352 (ISSN 0263-6484, PMID 15386533, DOI 10.1002/cbf.1149, lire en ligne [archive], consulté le 8 mai 2019)
- **George J. Krinke (Gillian R. Bullock (series ed.), Tracie Bunton (series ed.)),** *The Laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals)*, Academic Press, 15 juin 2000, 3–16 p. (ISBN 0-124-26400-X),
- **Géraldine Amblard.,Hervé Bonnavaud.,Céline Buche.,Damien Cercueil.,Laure Charvet.,Yves Chrétien.,Jean-Blaise Davaine., Dominique Degueurce.,Jean-Luc Dupupet., Christophe Eggenschwiller, et al.(2009).** Pesticides au quotidien. *Bourgogne.P* :13/66 .
- **Gervais et al. 2010.**"Pesticide Information Profiles: Imidacloprid Breaz". *Extension Toxicology Network*. Retrieved April 7, 2012.
- **Goldsworthy A.C., Mordue W., Guthkelch J. 1972.** Studies on insect adipokinetic hormones *Gen.Comp. Endocrinol.*p:306-314.
- **Gueye, Papa Madièye. (2007).** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. Université Louis Pasteur. Strasbourg .p : 26, Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques.
- **Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. 1974.** Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biology and Chemistry.* (249),p: 7130-7139.
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraignem J.O. & Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10): 628-638. En ligne: <http://orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/8914/1/Stress%20oxydant.%20RMLg.%202007.pdf>.
- **Halliwell, & Gutteridge, (1989).** Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol*, 70 : 737 – 757.
- **HASSAN, A. M. S., ABO EL-ELA, F. I. & ABDEL-AZIZ, A. M. 2019.** Investigating the potential protective effects of natural product quercetin against imidacloprid-induced biochemical toxicity and DNA damage in adults rats. *Toxicology Reports*, 6, 727-735.
- induced histological and biochemical alterations in liver of female albino rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 105, 1-4.
- **Inserm.(2013).** Expertise collective: Pesticides Effets sur la santé. Institut national de la santé et de la recherche médicale.
- **J. J. P. M. A. 2009.** Hepatitis E: a common cause of acute viral hepatitis. 59, 92-4.
- **Jacques, B. & André, R. (2008).** Biochimie métabolique (2è éd.) .Paris. Les cours du PCEM
- **Jaeschke H, McGill MR, Ramachandran A.** Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-

Référence

induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metab Rev* 2012 ; 44 : 88–106

- **Jinky, Leilanie Lu. (2010).** Analysis of Trends of the Types of Pesticide Used, Residues and Related Factors among Farmers in the Largest Vegetable Producing Area in the Philippines. *J Rural Med*.
- **Klotz, F; Nicolas, X; Debonne, J.M; Garcia, JF; Andreu, J.M. (2000).** Kystes hydatiques du foie. 7(23), 16. Paris.
- **KOFF, R. S. J. T. L. 1998.** Hepatitis a. 351, 1643-1649.
- **Koppenol W. H.** 100 years of peroxyinitrite chemistry and 11 years of peroxyinitrite biochemistry.
- **Koppenol W. H. 100** years of peroxyinitrite chemistry and 11 years of peroxyinitrite biochemistry. *Redox Rep.* 2001 ; 6(6) : 339-41.
- **L. W. Pisa, V. Amaral-Rogers, L. P. Belzunces, J. M. Bonmatin, C. A. Downs, D. Goulson, D. P. Kreuzweiser, C. Krupke, M. Liess, M. McField, C. A. Morrissey, D. A. Noome, J. Settele, N. Simon-Delso, J. D. Stark, J. P. Van der Sluijs, H. Van Dyck & M. Wiemers**
- **Lee Y.J., Lim S.S., Baek B.J., An J.M. et al. 2016 .** Nickel (II)-induced nasal epithelial toxicity and oxidative mitochondrial damage. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*
- **Lindau, B.A. & Shaffer, J.B. (1993).** Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Radical Biology and Medicine*, 15 (6), 581 - 588. Doi : 10.1016/0891-5849(93)90160-V
- **Liu T. Y., Chena Y., Wang W. Y., Ji LL., Zheng W T. 2010.** Pyrrolizidine alkaloid isoline-induced oxidative injury in various mouse tissues.
- **LOHIYA, A., KUMAR, V. & PUNIA, J. J. I. J. A. R. 2017b.** Imidacloprid induced oxidative stress and histopathological changes in liver of rats. 51, 531-536.
- **Lucile Montestrucq, Lucie Anzivino et Martine Dreneau. (2016).** Les pesticides. L'Agence régionale de la santé de Rhône-Alpes.
- **Lushchak, V. I., Matviishyn, T. M., Husak, V. V., Storey, J. M., & Storey, K. B.**
- **Marc Dufumier,** ingénieur agronome, Institut national agronomique Paris-Grignon radiofrance.fr [archive]
- **Michel Hautefeuille et Dan Véléa,** Les drogues de synthèse, Presses Universitaires de France, coll. « Que sais-je ? » (no 3625), 2002, 127 p. (ISBN 978-2-130-52059-7, OCLC 300468465)
- **Miroslav Ouzký (EPP-ED, CZ) :** Commission de l'environnement, de la santé publique et de la sécurité alimentaire .Procédure: Codécision, première lecture (rapport Klass sur la directive-cadre) - Rapport d'initiative (rapport Belohorská sur la stratégie thématique).
- **MISRA, D., MAITI, B. & GHOSH, D. 2009.** Protection of swimming-induced oxidative stress in some vital organs by the treatment of composite extract of *Withania somnifera*, *Ocimum sanctum* and *Zingiber officinalis* in male rat. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 6.
- **Nahida, AYAD-MOKHTARI. (2012).** identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés thèse de magister en chimie organique.
- **Nzengue Y. 2008.** Comparaison des mécanismes de toxicité redox du Cadmium, du cuivre et du zinc : place des métaux thionines. Thèse de doctorat, Université JOSEPH FOURIER – GRENOBLE 1, France. P : 299.
- **Oberdorster G., Ferin J., Lehnert B.E. 1994.** Correlation between particle size, in vivo particle persistence and lung injury. *Environ Health Perspect.* 102 (5) .p: 173-179.

Référence

- **Ozarowski, M., Mikolajczak, P. L., Piasecka, A., Kachlicki, P., Kujawski, R., Bogacz, A., BartkowiakWieczorek, J., Szulc, M., Kaminska, E., Kujawska, M., Jodynis-Liebert, J., Gryszczynska, A., Opala, B., Lowicki, Z., Seremak-Mrozikiewicz, A., & Czerny, B. (2016).** Influence of the *Melissa officinalis* Leaf Extract on Long-Term Memory in Scopolamine Animal Model with Assessment of Mechanism of Action. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9729818>
- **Pemble, S., Schroeder, K.R., Spencer, S.R., Meyer, D.J., Hallier, E., Bolt, H.M., Ketterer, B. & Taylor J.B. (1994).** Human glutathione S-transferase Theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochemical Journal*, 300(1), 271-276. doi : 10.1042/bj3000271
- **PHYSIOLOGY 2020.** Enhanced cytotoxicity of imidacloprid by biotransformation in isolated hepatocytes and perfused rat liver. 164, 183-190.
- **Pincemail, J., Le Goff, C., Charlier, C., Gillion, P., Cheramy, JP., Van, E. H., Chapelle, JP. & Defraigne, JO. (2009).** Evaluation biologique du stress oxydant : Application en routine clinique. *Nutrition & Endocrinologie*, 16-31. En ligne : <https://orbi.uliege.be/request-copy/2268/40285/45460/300.pdf>
- **Poirier, J., Coujard, R., & Racadot, J. (1980).** Précis d'histologie humaine. Presses Université Lava.
- **R. P., UTSUNOMIYA, K. S., GILGLIONI, E. H., CONSTANTIN, J., ISHIIWAMOTO, E. L., MAIOLI, M. A., MINGATTO, F. E. J. P. B. &**
- **Rachel Therrien Pharmacist,** Bpharm, Msc Unité Hospitalière de recherche et d'enseignement VIH/sida Centre Hospitalier de l'Université de Montréal . Réalisé grâce à une subvention à l'éducation accordée par Tibotec, une division de Janssen-Ortho Inc. © 2009 Tibotec, une division de Janssen-Ortho Inc .
- **Ré, D.B., Nafia, I., Nicoullon, A., Kerkerian, L. & Had-Aissouni, L., (2005).** Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations? Consequences for neuronal viability. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24, 502–509. doi: 10.1016/j.annfar.2005.03.004.
- **Redox Rep. 2001 ; 6(6) : 339-41. - Uzunhisarcikli, M., & Kalender, Y. (2011).** Protective effects of vitamins C and E against hepatotoxicity induced by methyl parathion in rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(7), 2112-2118.
- **RIBES, J., CLÈRIES, R., ESTEBAN, L., MORENO, V. & BOSCH, F. X. J. J. O. H. 2008.** The influence of alcohol consumption and hepatitis B and C infections on the risk of liver cancer in Europe. 49, 233-242.
- **Romani A ,et al.,(2006)** Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts, *J Pharm Biomed Anal* 41(2):415-20.
- **SEBAE, A. K. H.2010.** The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 215-221.
- **Sheets LP.** Imidacloprid: a neonicotinoid insecticide. In: Hayes' Hand book of pesticide toxicology. Paris: Elsevier; 2010:2055–64 and National Pesticide Information Center. Imidacloprid technical fact sheet. USA: Oregon State University; 2010, <http://npic.orst.edu/factsheets/imidacloprid.html>.
- **Sherratt, P.J. et Hayes J. (2001).** Glutathione-S-transferases: Enzyme systems that metabolise drugs and other xenobiotics. Ioannides, C: Wiley & sons. doi:10.1002/0470846305.ch9
- **Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyek C.A., Newhall A.R., Fridman L .1966.** A method for sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid, and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analytical Biochemistry*. P: 514-528.
- **snail Eobania vermiculata** (Muller) treated with some pesticides. *J.Environ.sci.Health*. p: 26.
- **Stéphane Foucart , BIODIVERSITÉ,**Tout comprendre aux pesticides néonicotinoïdes, *Journal du monde* Publié le 15 mars 2016 à 19h03 - Mis à jour le 10 mai 2016 à 20h54.
- **TELANG, A. & SHARMA, A. J. I. J. O. V. P. 2019.** Effect of imidacloprid on growth performance and

Référence

haemato-biochemical parameters in male Wistar rats. 43, 3842.

- **THYSSEN, J. & MACHEMER, L. 1999. Imidacloprid: Toxicology and Metabolism.** In: YAMAMOTO, I. & CASIDA, J. E. (eds.) *Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor*. Tokyo: Springer Japan.
- **TIŠLER, T., JEMEC, A., MOZETIČ, B. & TREBŠE, P. 2009.** Hazard identification of imidacloprid to aquatic environment. *Chemosphere*, 76, 907-914.
- **TOOR, H. K., SANGHA, G. K. & KHERA, K. S. 2013.** Imidacloprid
- **TSIAOUSSIS, J., KOURETAS, D., TSITSIMPIKOU, C., CARVALHO, F. & TSATSAKIS, A. M. 2018.** The metabolism of imidacloprid by aldehyde oxidase contributes to its clastogenic effect in New Zealand rabbits. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 829-830, 26-32.
- **WAMHOFF, H. & SCHNEIDER, V. 1999.** Photodegradation of Imidacloprid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1730-1734.
- **Wassmann, S., Wassmann, K. & Nickenig, G. (2004).** Modulation of Oxidant and Antioxidant Enzyme Expression and Function in Vascular Cells. *American Heart Association*, 44(4), 381-386. doi: 10.1161/01.HYP.0000142232.29764.a7
- **Weckbercker G., Cory J.G. 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathionedepended mouse Leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letter*. (40).p: 257- 264.
- **YANG, G., YUAN, X., JIN, C., WANG, D., WANG, Y., MIAO, W. & JIN, Y.**
- **YAP, C. Y. & AW, T. C. 2010a.** Liver function tests (LFTs). *Proceedings of Singapore Healthcare*, 19, 80-82.
- **YAP, C. Y. & AW, T. C. J. P. O. S. H. 2010b.** Liver function tests (LFTs). 19, 80-82.

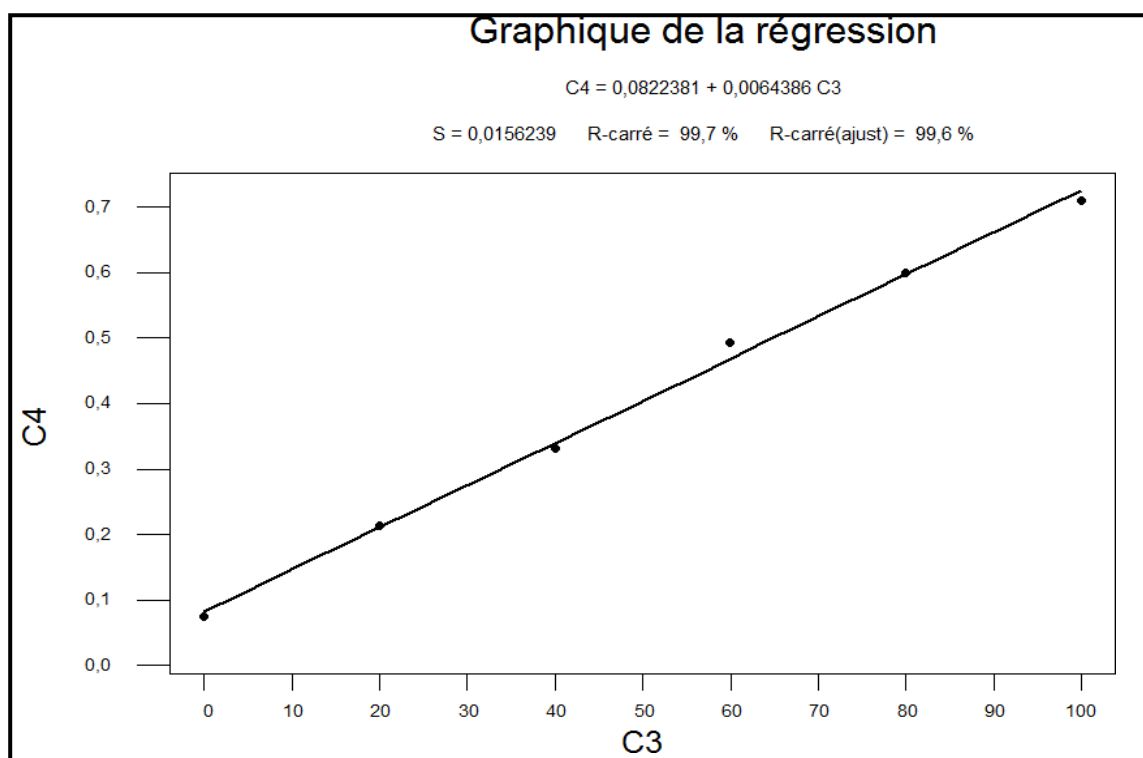
Annexes

ANNEXE

ANNEXES

1. Courbe d'étalonnage pour dosage des glucides

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère (glucose) (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4



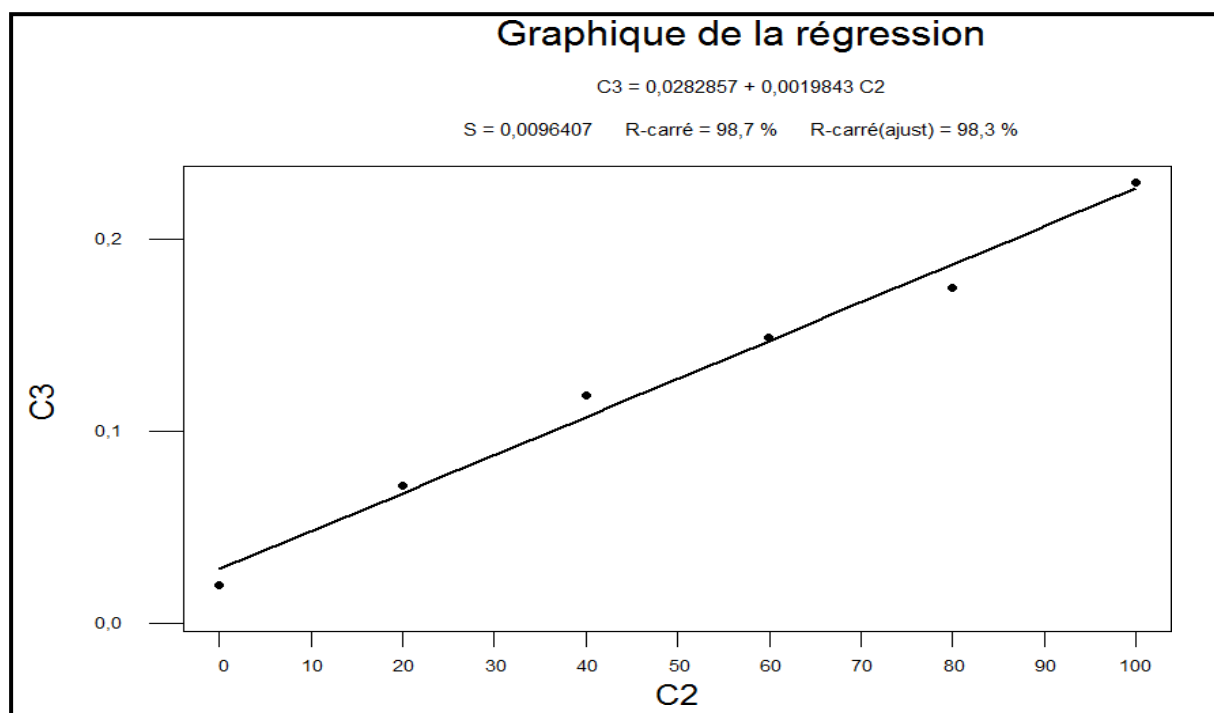
Tableau/Figure (A). Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides

L'équation : $Y=0.0822381+0.0064386X$

ANNEXE

2. Courbe d'étalonnage pour dosage des lipides

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipide (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant éther/chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif SPV (ml)	2.5	2.2	2.5	2.5	2.5	2.5



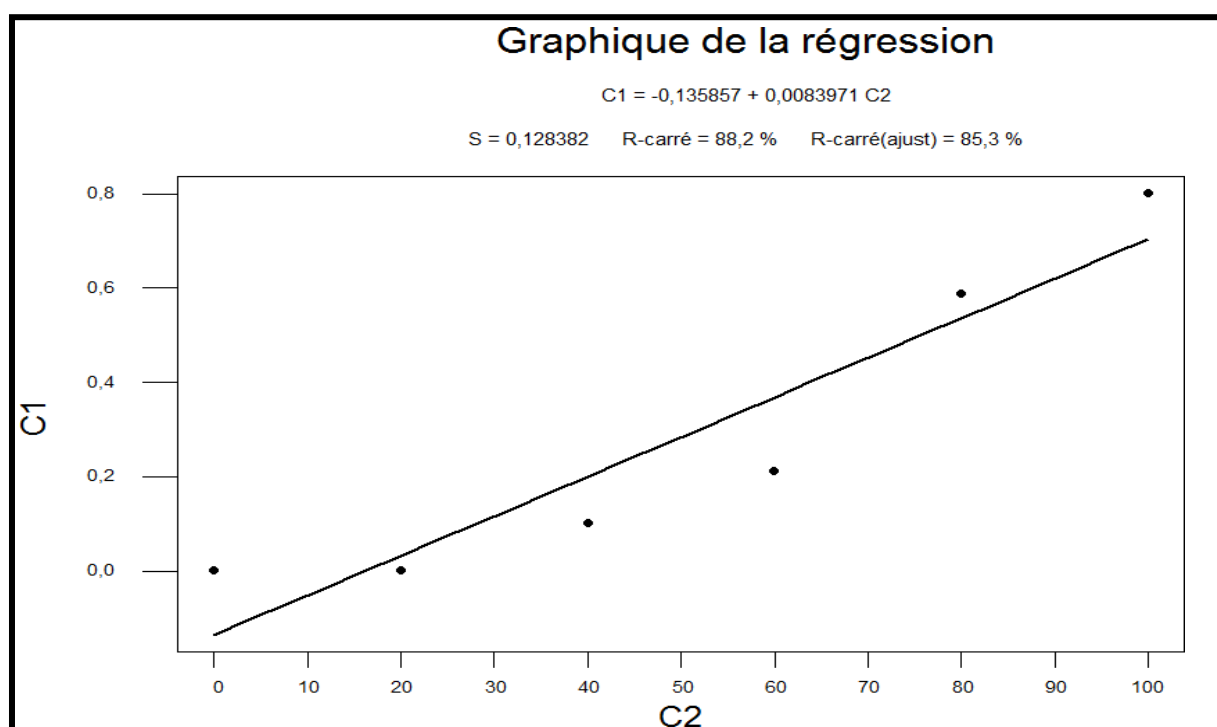
Tableau/Figure (B). Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides

L'équation : $Y=0.0282857+0.0019843X$

ANNEXE

3. Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de l'Albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4



Tableau/Figure (C). Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

L'équation : $Y = -0.135857 + 0.0083971X$

ANNEXE

2.2. Matériel utilisé dans les différentes étapes de l'étude









			
- Balance de précision (KERN).	- Centrifugeuse (SELECTA).	- Bain mari (MEMMERT).	- Agitateur magnétique (WITEG).
			
- Spectrophotomètre	- Bain de sable	- Vortex (THERMOS).	- Réfrigérateur

Figure 22: Grand matériel de laboratoire et appareils

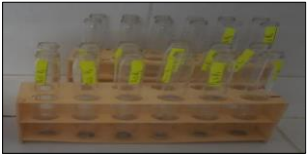




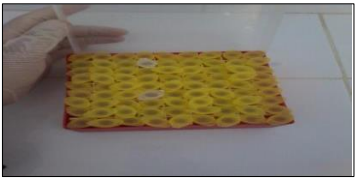
			
- tubes à essais	- Mortiers	- TGO/TGP	- Verreries
		<ul style="list-style-type: none"> - Pissette. - Spatule. - Barreau magnétique. - Extracteur des barreaux magnétiques. - Embouts. - Cuvette pour la spectrophotométrie (en plastique et en verre). 	
- Micropipettes	- tubes épindorphes		
<ul style="list-style-type: none"> - Micropipettes de 100µl et 1000µl. - Poire. - Pipettes graduées. 	<ul style="list-style-type: none"> - Portoirs pour différents types des tubes. - Tubes secs en verre et en plastique. 		
		<ul style="list-style-type: none"> - Papier d'aluminium. - Papier hygiénique - Béchers - Erlenmeyers. - Eprovettes graduées. 	

Figure 23: petit matériel de laboratoire

ANNEXE

1-1-Matériel chimique

- ✓ Eau distillée.
- ✓ TCA (Trichloro acétique).
- ✓ Anthrone.
- ✓ Acide sulfurique.
- ✓ Acide orthophosphorique (à 85%).
- ✓ Vanilline.
- ✓ BBC (Bleu Brillant de Coomassie).
- ✓ Ether.
- ✓ Chloroforme.
- ✓ Ethanol (à 95%).
- ✓ BSA (Albumine sérum de bœuf).
- ✓ Glucose.
- ✓ Huile de tournesol.
- ✓ Sodium phosphate dibasique.
- ✓ SSA (Acide sulfosalicylique).
- ✓ Sodium phosphate monobasique.
- ✓ Tris.
- ✓ HCl.
- ✓ NaOH.
- ✓ Méthanol absolu.
- ✓ EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique).
- ✓ DTNB (l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénoïque).
- ✓ NaCl
- ✓ TBA
- ✓ BHT
- ✓ GSH
- ✓ CDNB (1-Chloro2, 4 di nitrobenzène)
- ✓ H₂O₂
- ✓ Phosphate
- ✓ Calcium Ca⁺²